

University of Dundee

Berg and Laws Survival Guide to Genetics

Berg, Jonathan; Laws, Eve

DOI:
[10.20933/100001266](https://doi.org/10.20933/100001266)

Publication date:
2023

Licence:
CC BY-NC-ND

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in Discovery Research Portal](#)

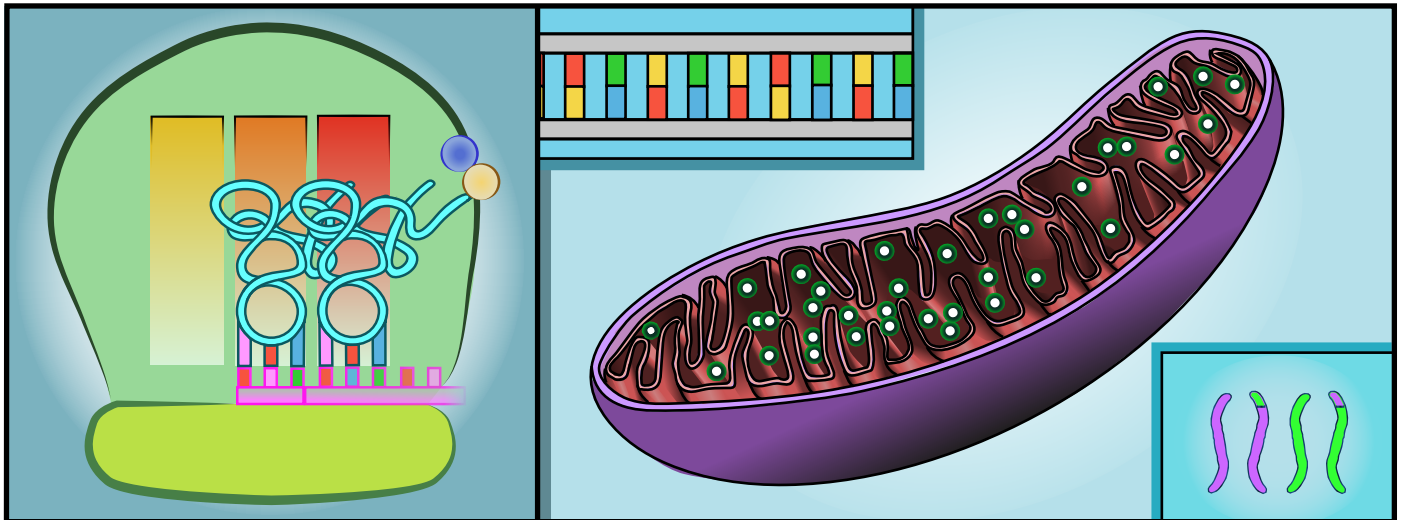
Citation for published version (APA):
Berg, J., & Laws, E. (2023). Berg and Laws Survival Guide to Genetics. University of Dundee.
<https://doi.org/10.20933/100001266>

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in Discovery Research Portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

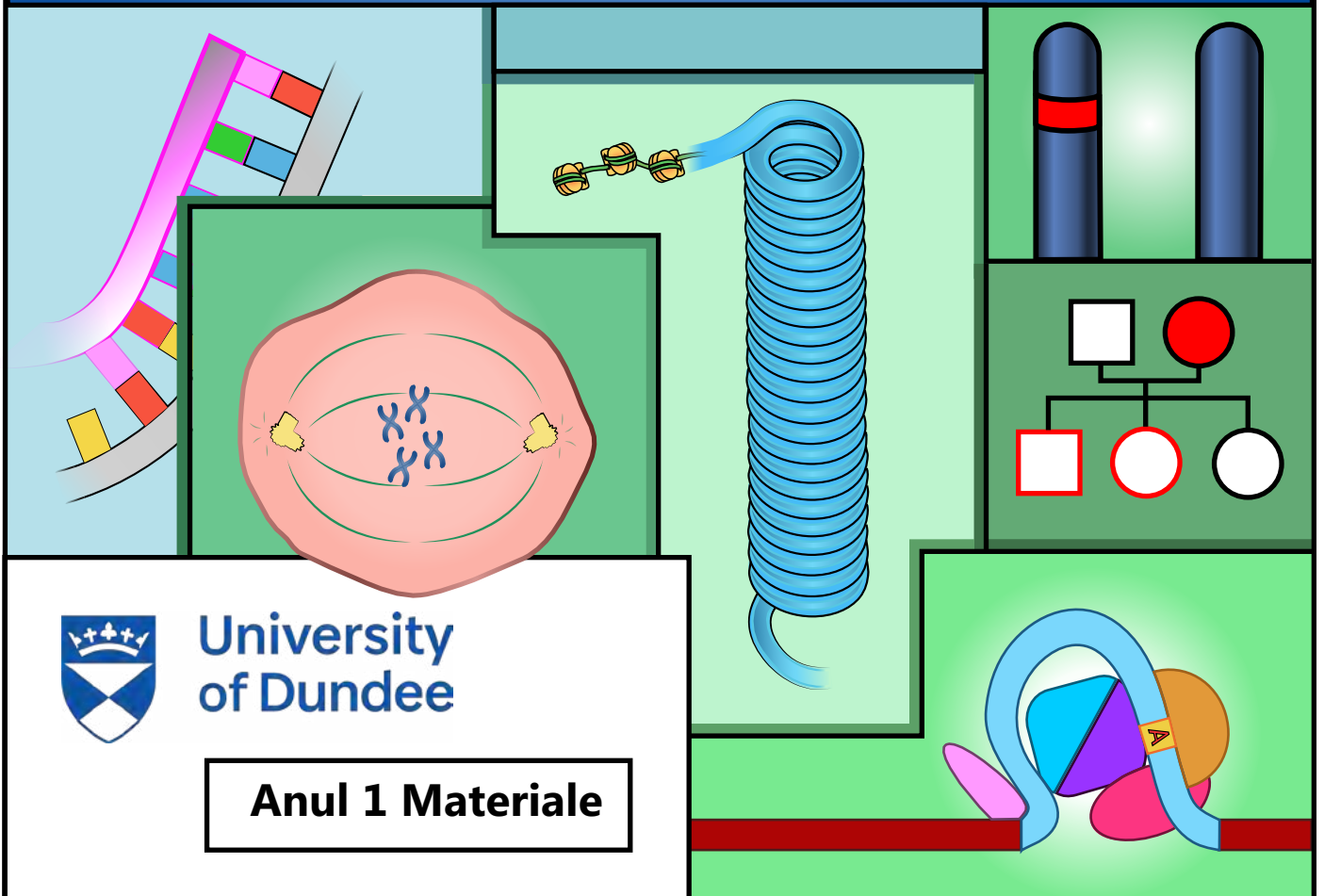
Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



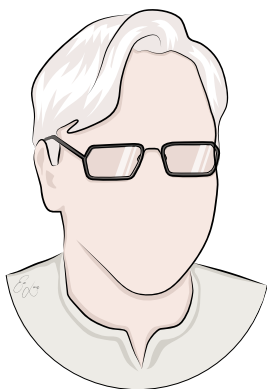
BERG AND LAWS

GHID DE SUPRAVIETUIRE GENETICĂ



University
of Dundee

Anul 1 Materiale



Conținut de:

Dr Jonathan Berg

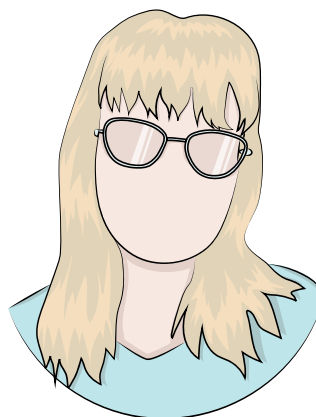
MBChB, MSc, MD, FRCP Edin.

Lector superior și consultant onorific în
genetică clinică
Școala de Medicină,
Universitatea din Dundee

Desene și design de:

Eve Laws

Artist medical
Technology and Innovation
in Learning Team (TILT)
Școala de Medicină,
Universitatea din Dundee



School of Medicine
University of Dundee

tilt

Technology & Innovation
in Learning Team



Winner of
the Institute
of Medical
Illustrators
Gold Award
2021

Attribution
Non-commercial
No derivatives



European
Reference
Network
for rare or low prevalence
complex diseases
Network
Intellectual Disability
and Congenital
Malformations (ERN ITHACA)

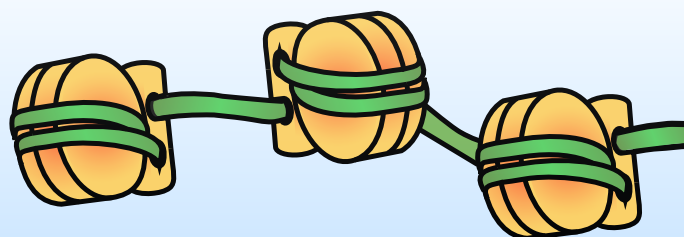
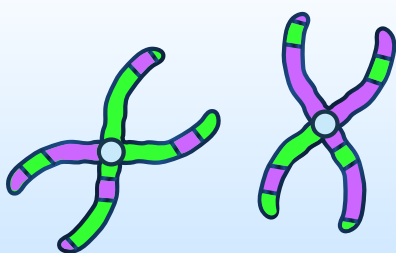
Furnizat ERN ITHACA de către
Universitatea din Dundee

Adaptat în limba română de
Adela Chirita-Emandi

DOI
10.20933/100001266

CONȚINUT

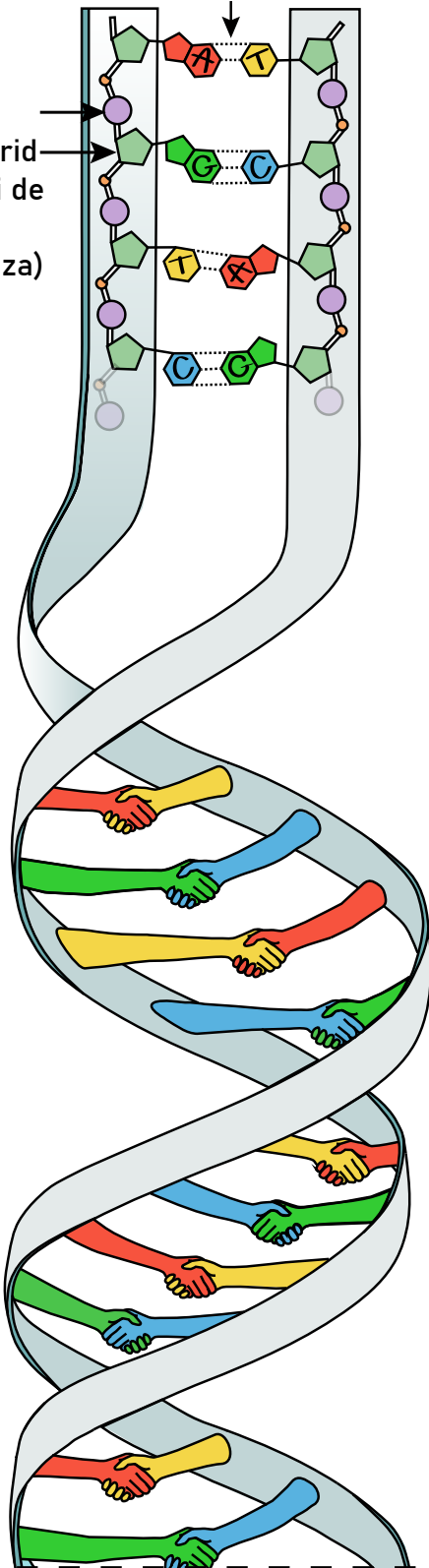
Acid deoxiribonucleic (ADN).....	1	Arborele genealogic	35
Acid ribonucleic (ARN)	2	Tipuri de mutații și nomenclatura	36
Dimensiunea genomului	3	De unde provin mutațiile?	39
Structura genomului	5	Mutațiile somatice și cancerul.....	41
Replicarea ADN	7	Secvențierea de nouă generație	42
Mitoză	8	Filtrarea genetică	43
Meioză	10	Penetranță și ereditatea mendeliană	44
Structură normală a cromozomilor	13	Ereditatea mitocondrială non-mendeliană	50
Chromosomi dezechilibrați.....	15	Metilarea ADN	52
Translocatii	16	Amprentare genomică	54
Deleție cromozomială	17	Ereditatea multifactorială	56
FISH (Hibridizare fluorescentă în situ)	18	Boală comună Variantă comună	57
Microarray cromozomial	19	Boală comună Risc multifactorial	59
Inactivare X	20	Trăsăturile distinctive ale cancerului	62
Transcripția ADN	23	Ipoteza celor două lovituri	64
Dogma centrală	24	Mutația <i>BRAF</i>	65
Matisare	25	Cancerul în calea MAPK	65
Translație	27	Practica clinică clasică	66
Modificare post-translatională	30	Integrarea secvențierii de nouă generație	67
Repararea ADN	31	Testarea pre-simptomatică	68
Polimorfisme	33		



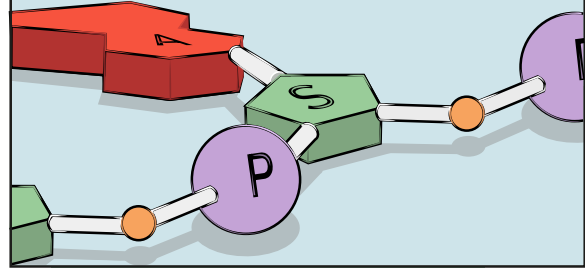
ADN

Legături de hidrogen

Fosfat
Monozaharid
cu 5 atomi de
carbon
(Deoxiriboza)



ACIDUL DEZOXIRIBONUCLEIC ȘI IMPERECHEREA BAZELOR



Acidul dezoxiribonucleic prezintă un ax central alcatuit din grupari fosfoglucidice, cu informații conținute în secvență de baze.

Dublul helix al ADN-ului este format din două catene, care merg în sens opus una față de cealaltă.

Legăturile de hidrogen dintre baze unesc cele 2 catene, Adenina se imperechează cu Timina, iar Guanina se imperechează cu Citozina.

Purine

A Adenina

G Guanina

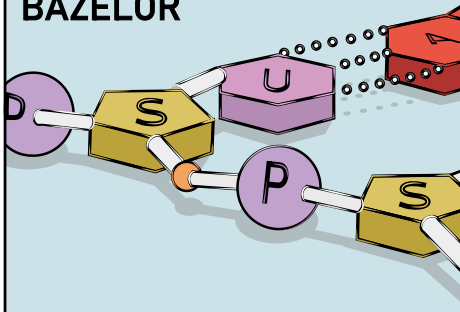
Pirimidine

T Timina

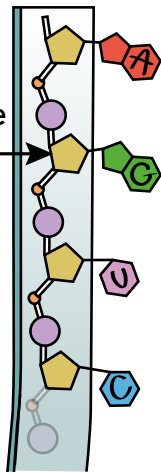
C Citozina



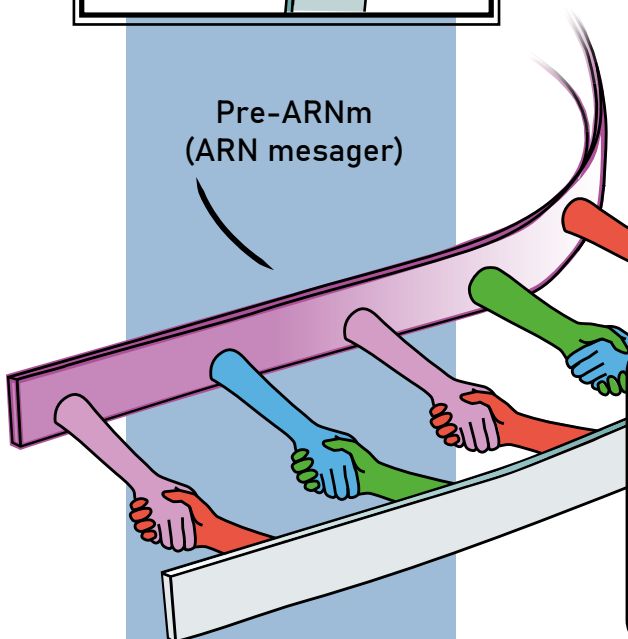
ACIDUL RIBONUCLEIC ȘI IMPERECHEREA BAZELOR



Monozaharid
cu 5 atomi de
carbon
(Riboza)



Pre-ARNm
(ARN mesager)

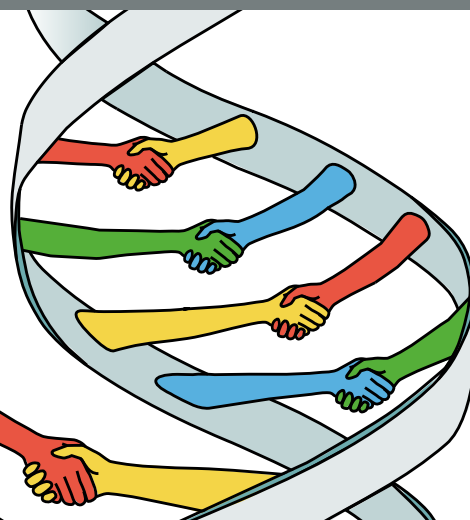


R N A

Acidul ribonucleic este de obicei o moleculă monocatenară.

Principalele diferențe față de ADN sunt gruparea glucidică din axul central care este Riboza, iar bază Uracil înlocuiește Timina.

Acesta are o serie de funcții diferite în celulă.



Purine

Pirimidine

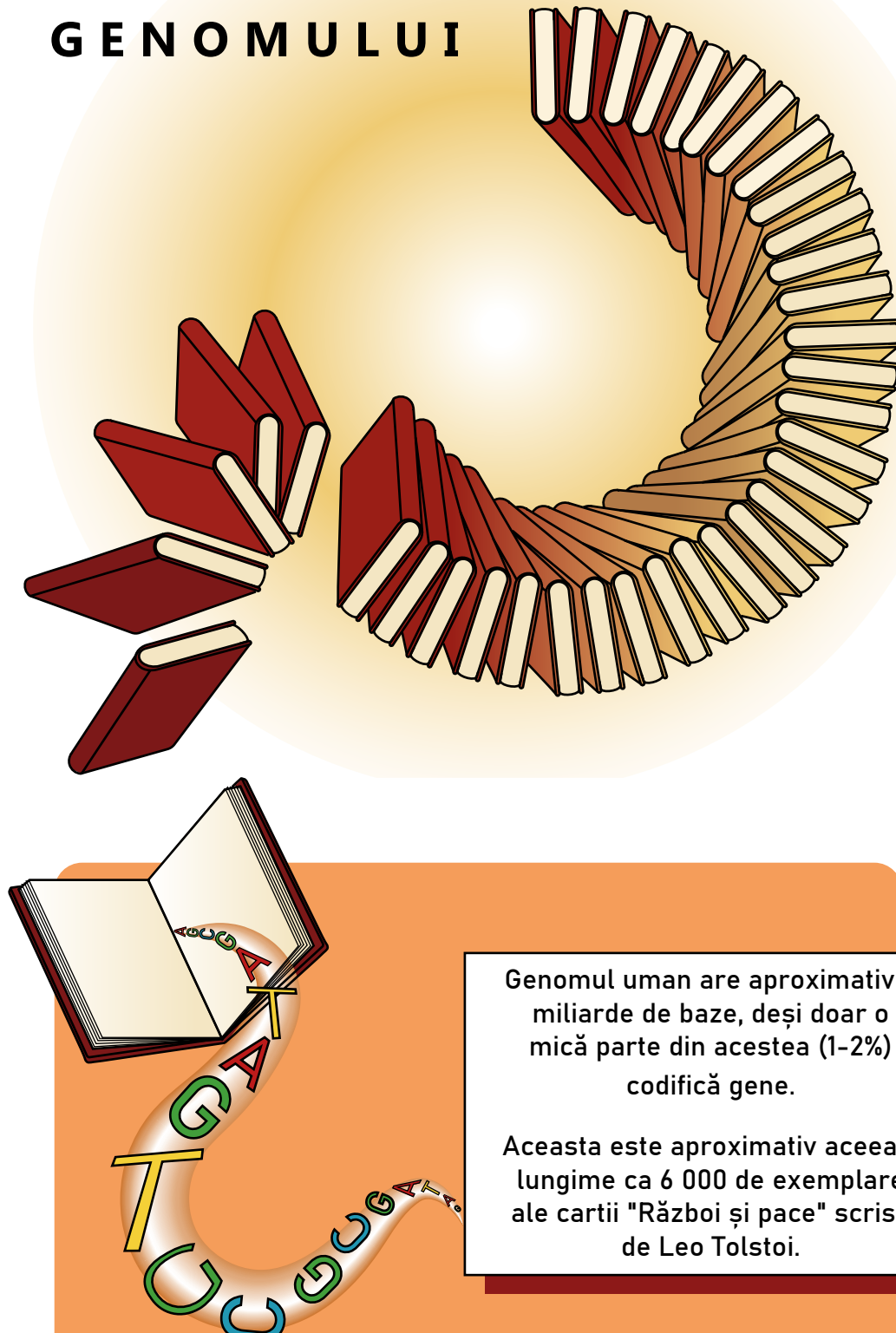
A Adenina

U Uracil

G Guanina

C Citozina

DIMENSIUNEA GENOMULUI



Genomul uman are aproximativ 3 miliarde de baze, deși doar o mică parte din acestea (1-2%) codifică gene.

Aceasta este aproximativ aceeași lungime ca 6 000 de exemplare ale cartii "Război și pace" scrisă de Leo Tolstoi.

Spirala ADN este înfășurată în jurul unor proteine numite histone și interacționează cu alte proteine pentru a forma o structură în nucleu.

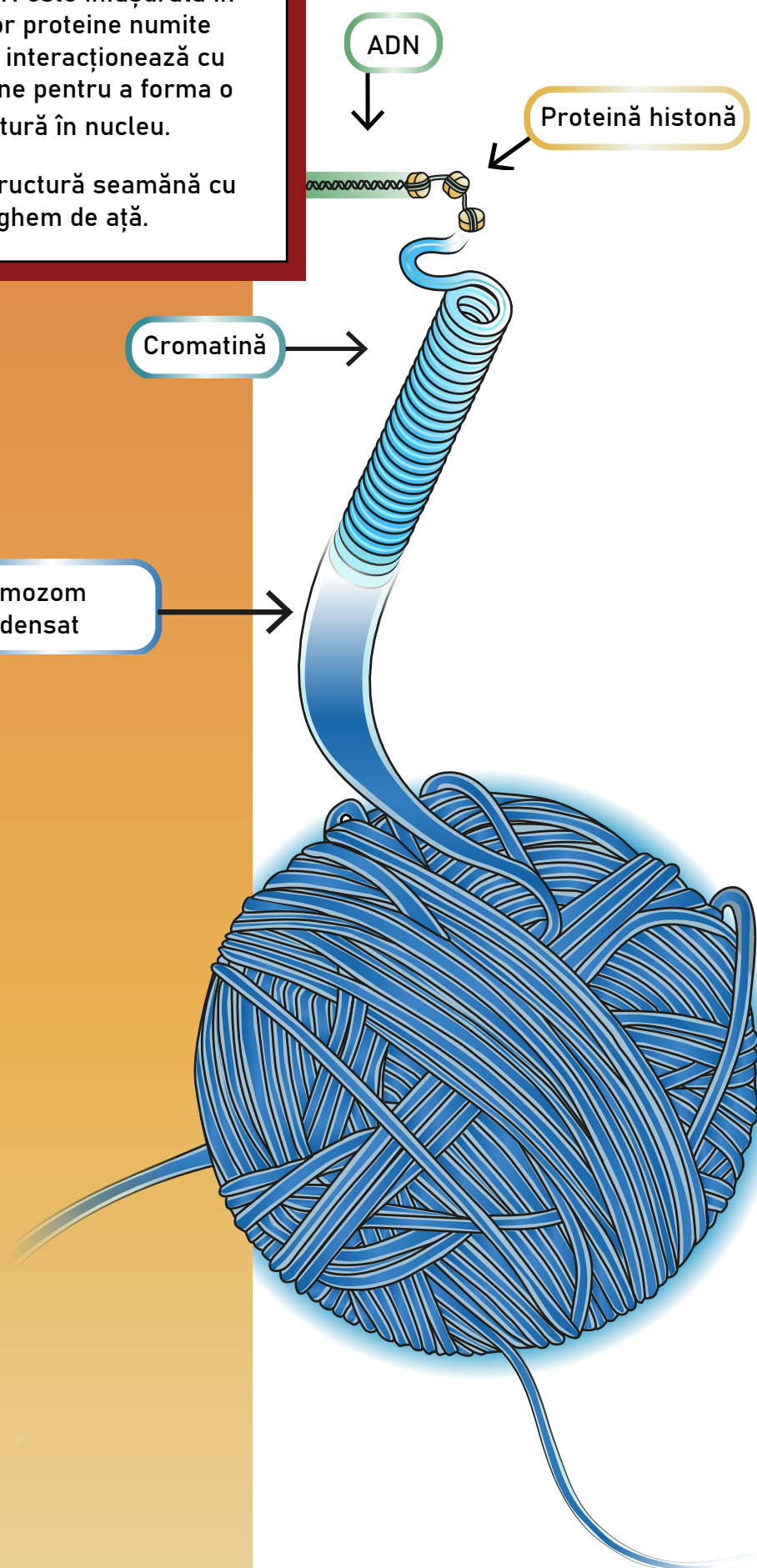
Această structură seamănă cu un ghem de ață.

ADN

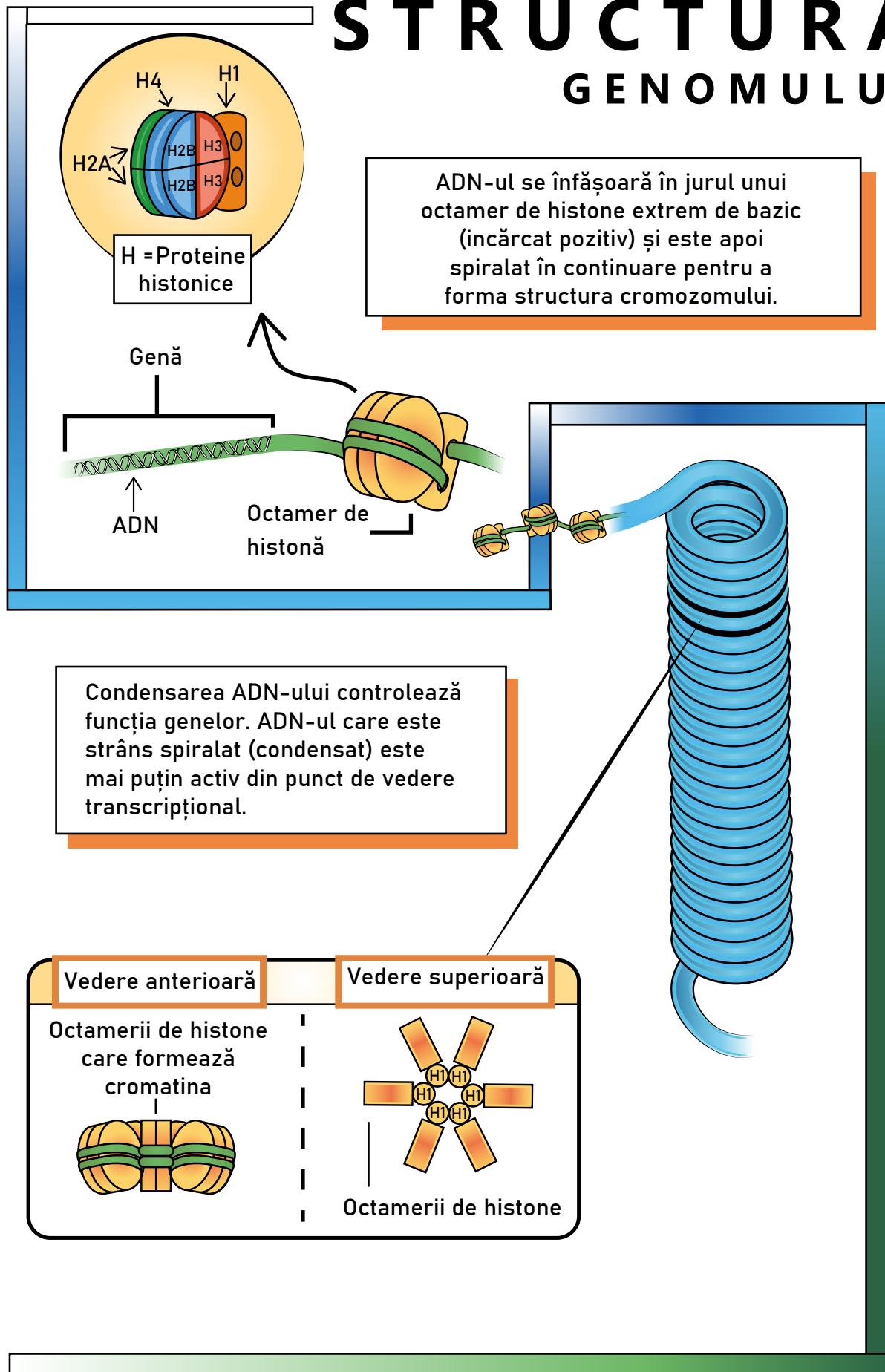
Proteină histonă

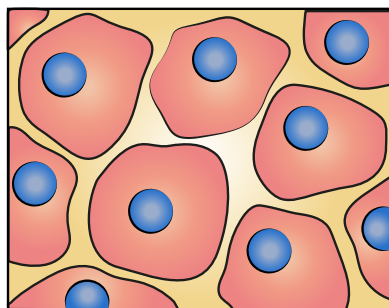
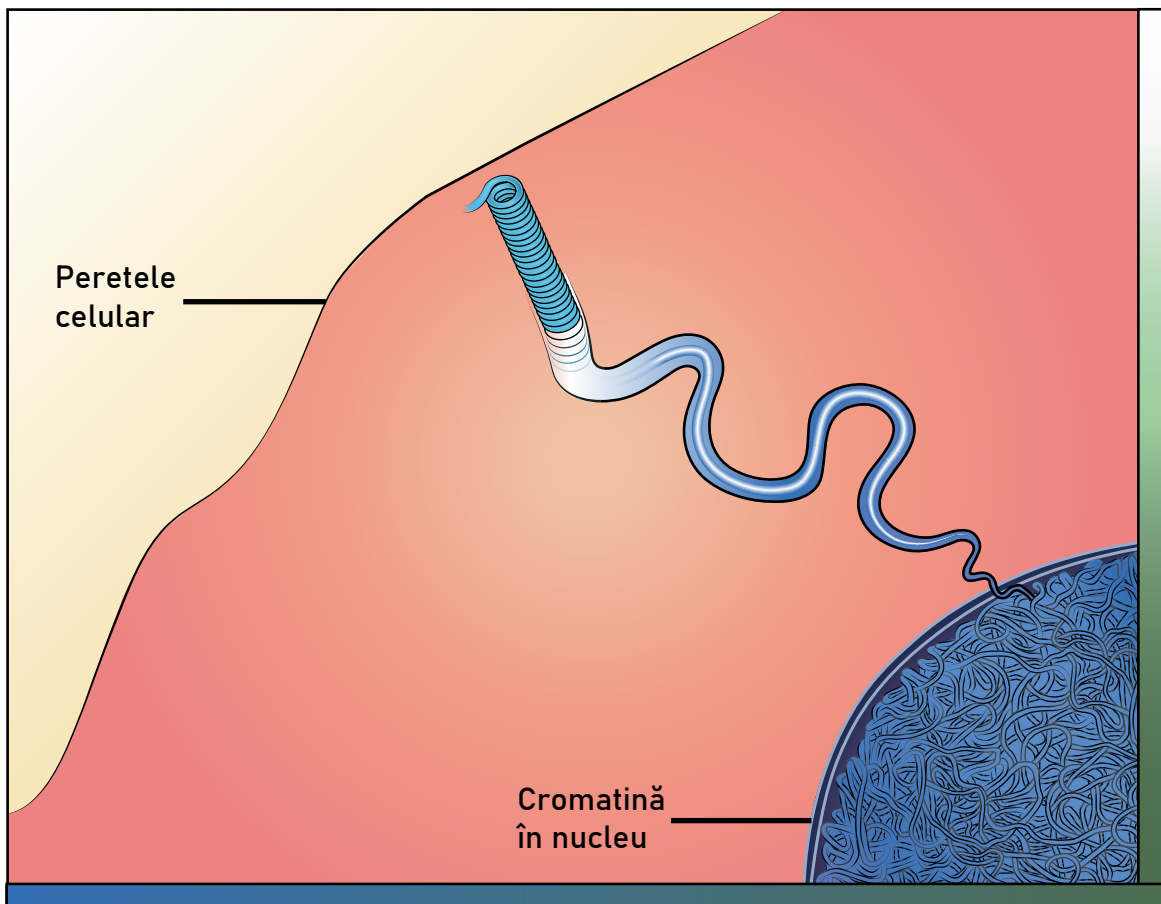
Cromatină

Cromozom condensat



STRUCTURA GENOMULUI





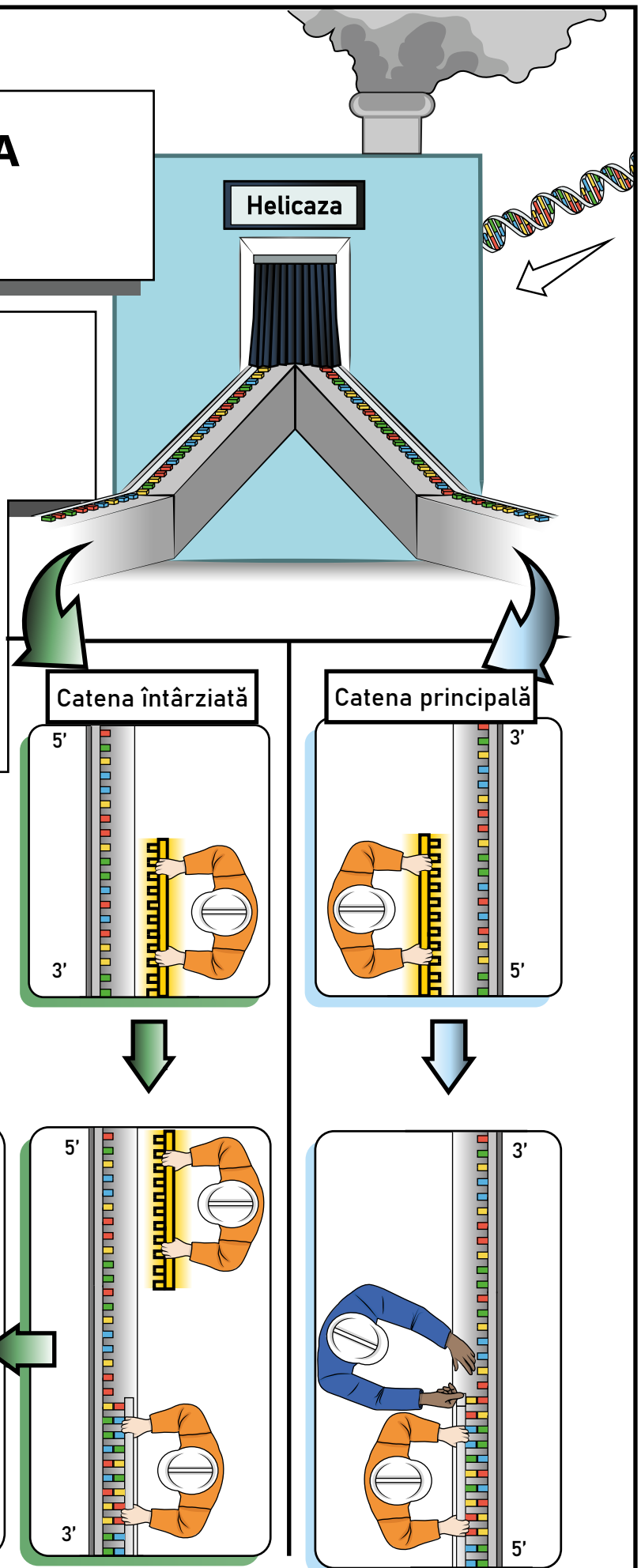
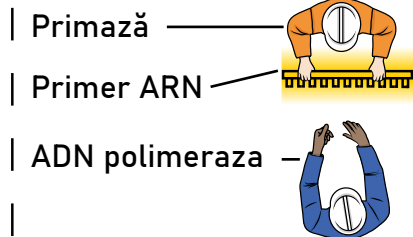
22 de perechi de cromozomi
autozomi și cromozomii sexuali
sunt totți prezenți în fiecare celulă.

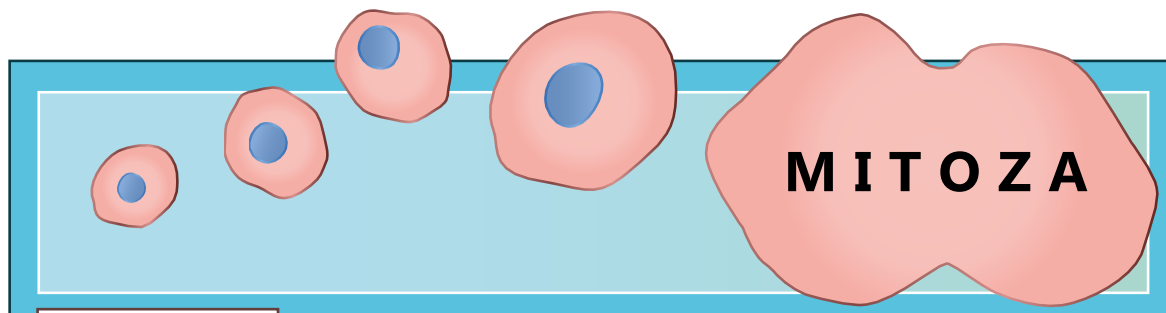


REPLICAREA ADN

Un lanț de ADN poate fi replicat într-o singură direcție. După ce firele sunt separate și derulate, firului principal i se adaugă baze în direcția 5' la 3' de către o ADN polimerază.

Pe lanțul rămas, pe măsură ce se derulează, sunt sintetizate fragmente scurte de ADN (denumite fragmente Okazaki), care sunt apoi unite de o ADN ligază.





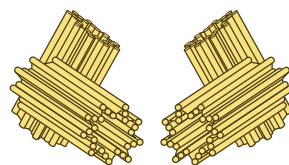
Interfază

Mitoza este procesul de diviziune a celulelor somatice. O celulă mamă devine două celule fiice aproape identice genetic.

În interfază, celulă arată normal - celula poate fi în faza G0, G1 sau S a ciclului celular. ADN-ul este replicat în timpul fazei S.



ADN
replicat



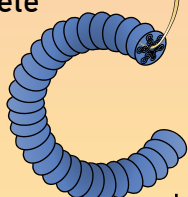
X2
Centrozomi



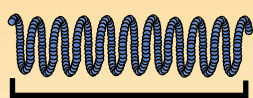
ADN în
nucleu

6 bucle =
1 rozeta

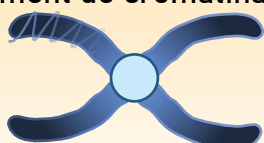
Structură
tip schele



30 rozete =
1 bobina

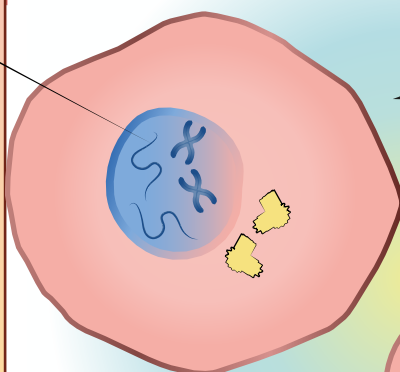


Mai multe bobine =
Segment de cromatina



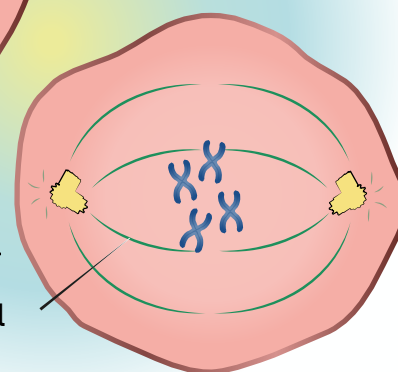
2 cromatide surori =
1 cromozom metafazic

Faza 1 - Profază



Fusul
acromatic

Microtubul

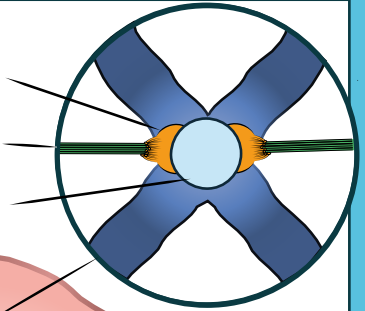


În profază, cromozomii se condensează
și formează o parte a fusului mitotic.

Faza 2 - Metafază

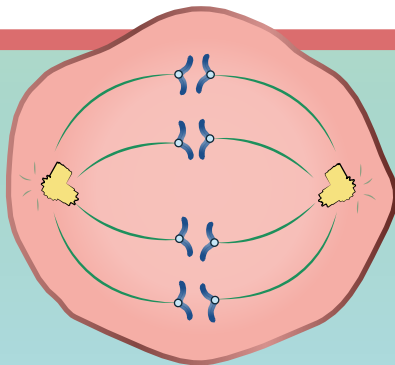
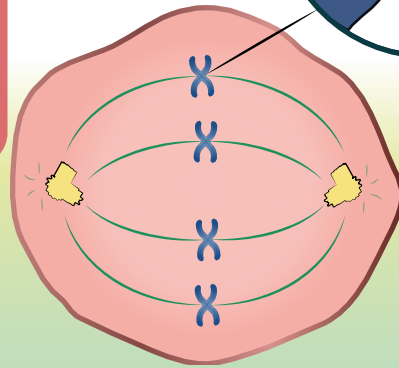
În metafază, cromozomii se aliniază în centrul celulei în diviziune. Microtubulii sunt atașați de centromerul fiecărui cromozom.

Kinetocor
Microtubul
Centromer



Faza 3 - Anafază

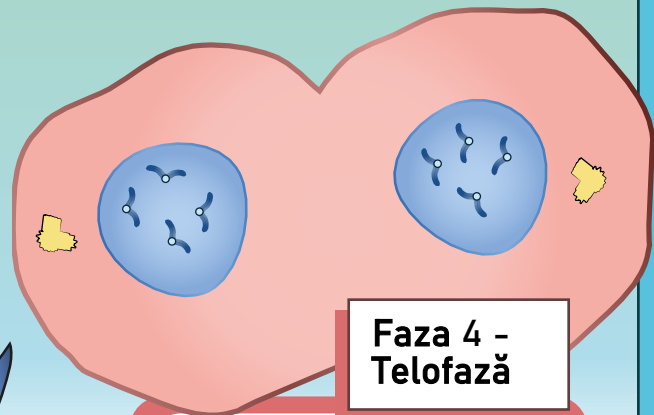
În Anafază, cromozomii duplicați sunt separați prin contracția microtubulilor.



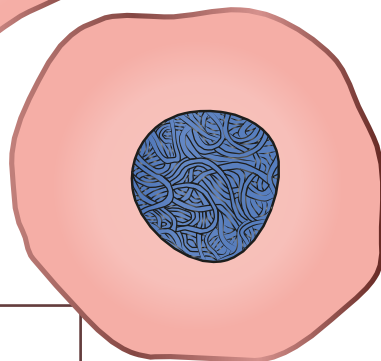
Faza 4 - Telofază

În timpul telofazei, cromozomii ajung la polii celulei, iar cele două celule se separă (citokineza).

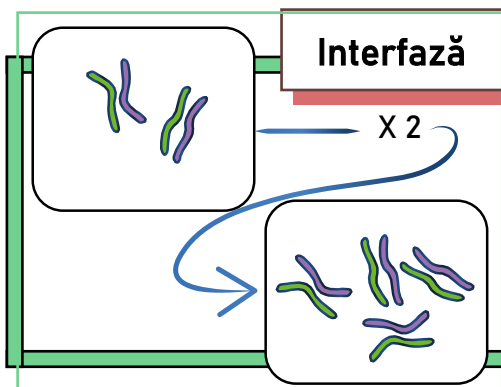
Cromozomii se decondensează și formează o parte din nucleu din nou.



**Citokineza
(celulele fiice)**



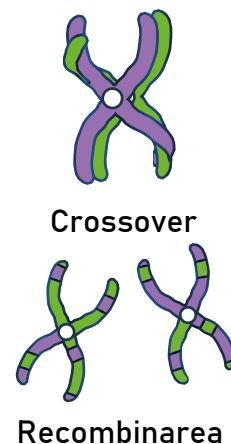
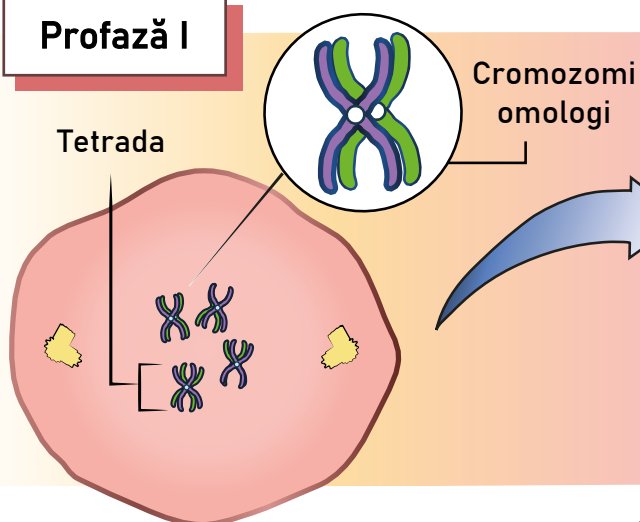
MEIOZA



Meioza la om are loc numai în timpul producerii gameților. Caracteristicile principale reprezentate de gameții haploizi sunt recombinația care are loc între cromozomi omologi. Această recombinație asigură segregarea independentă a variantelor genetice de pe același cromozom.

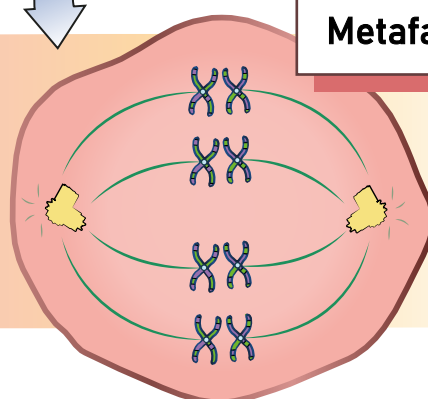
Meioza I

Profază I

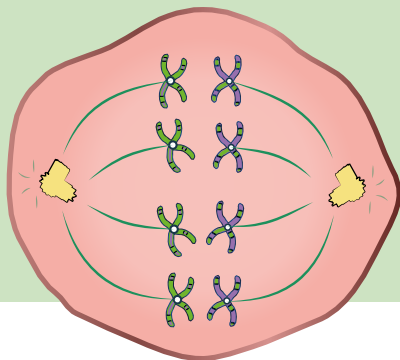


Meioza are loc în 2 etape, Meioza I și Meioza II. În timpul profazei din Meioza I, cromozomii omologi se împerechează și are loc un crossing-over între cromatidele omoloage.

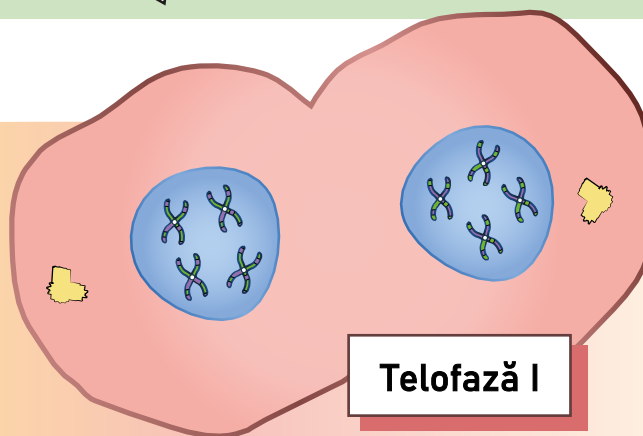
Metafază I



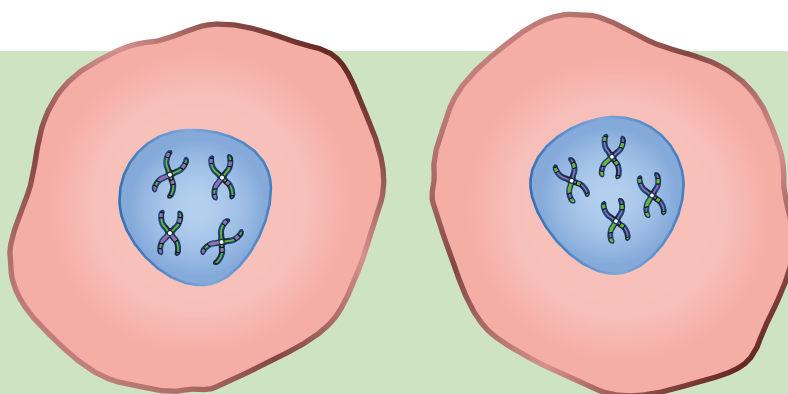
Anafază I



Telofază I

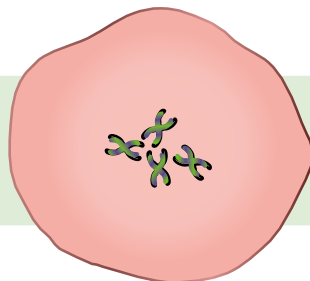


Celule fiice

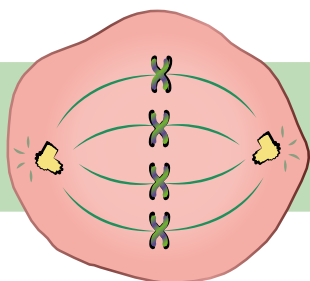
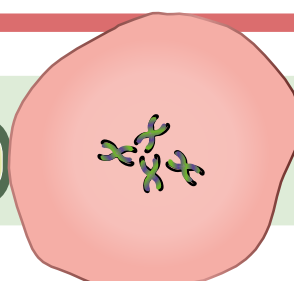


Meioza II

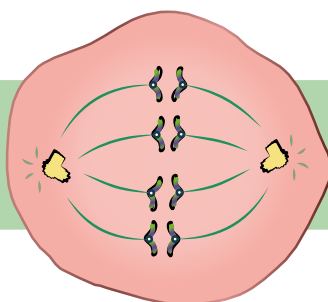
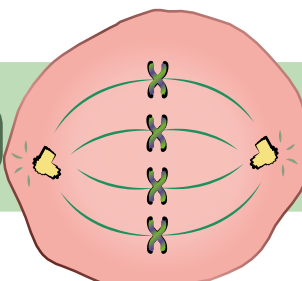
În meioza II, o a doua rundă de diviziune celulară rezultă în formarea a 4 celule fiice haploide.



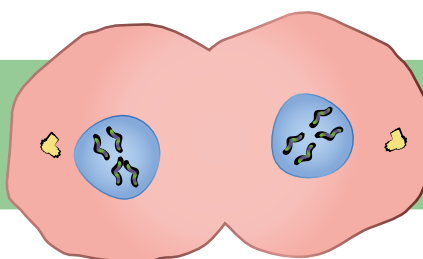
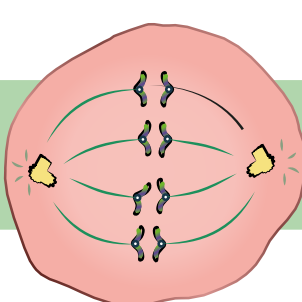
Profază II



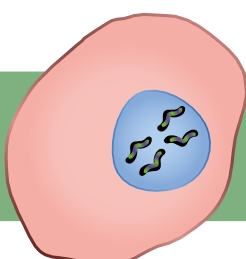
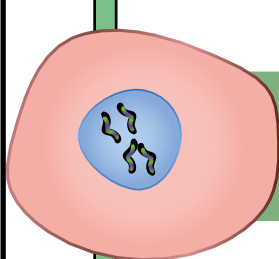
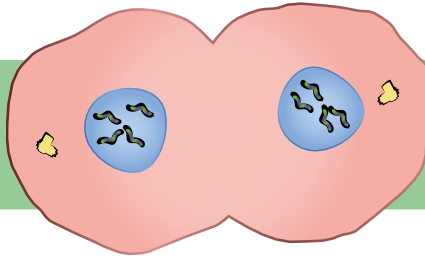
Metafază II



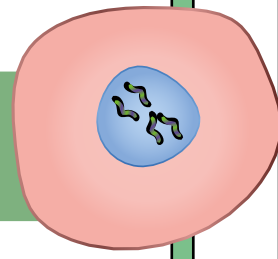
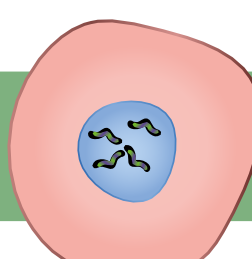
Anafază II



Telofază II

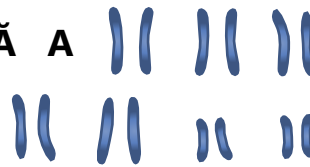


Celule fiice

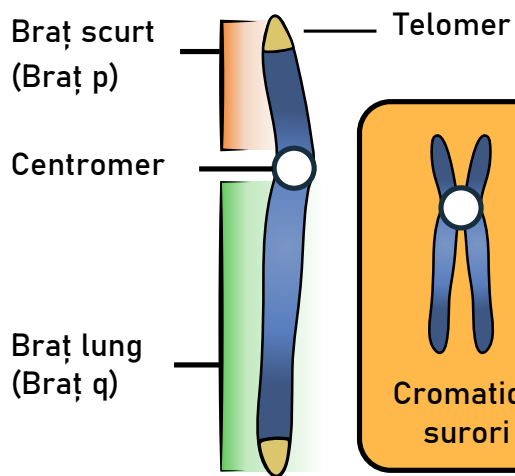


STRUCTURA NORMALĂ A

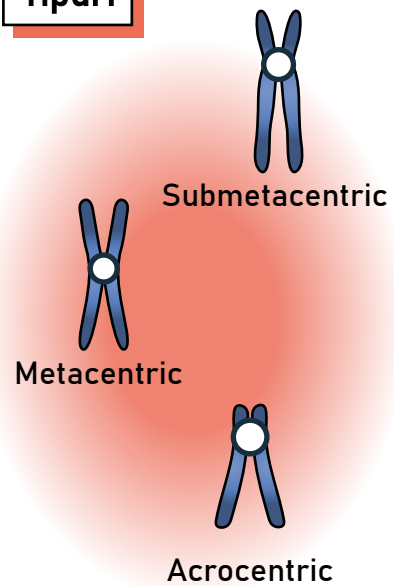
CROMOZOMILOR



Structura



Tipuri



Cromozomii sunt recunoscuți după dimensiunea lor, poziția centromerului și modelul lor de benzi.

Un cromozom metacentric are telomerul aproape de mijloc, cu un braț "p" mai scurt și un braț "q" mai lung. Un cromozom acrocentric are centromerul la un capăt, conținând doar ADN satelit pe brațul scurt "p".

Bandarea

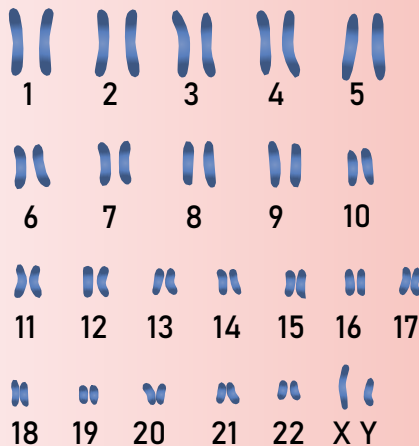
Cromozomii sunt vizualizați în metafază în timpul mitozei. Colorarea conferă fiecărui cromozom un model caracteristic de benzi, cu benzi întunecate care indică regiunile sărace în gene și benzi deschise care indică zonele bogate în gene.

Colorarea cromozomilor

G/C bogat =
mai multe gene



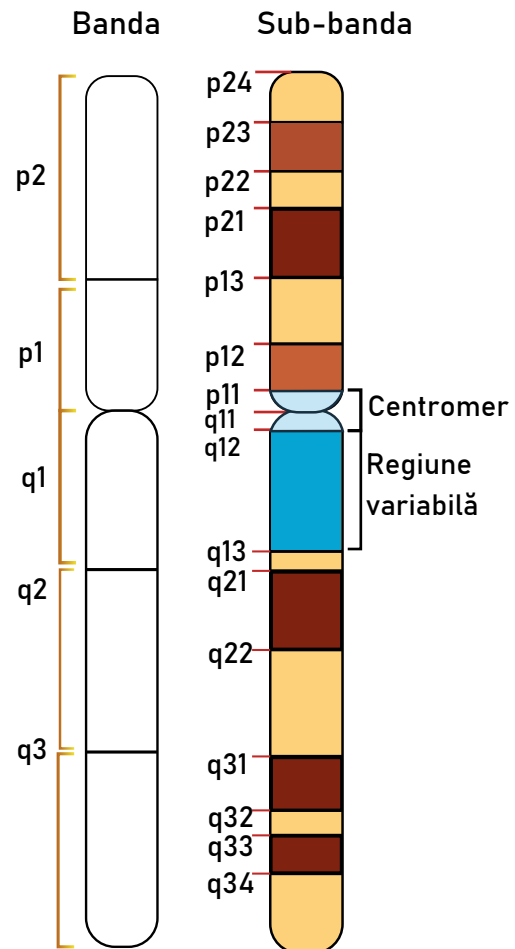
A/T bogat =
mai puține gene



Complementul de cromozomi normal este de 22 de perechi de cromozomi autozomi și 2 cromozomi sexuali, fie 2 cromozomi X, fie un X și un Y, sub formă 46,XX sau 46,XY.

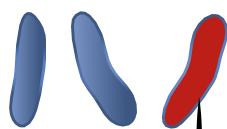
Se spune că un complement cromozomial este echilibrat dacă există o cantitate normală din fiecare cromozom (indiferent dacă cromozomii sunt normali sau există o rearanjare).

Cromozomul 9



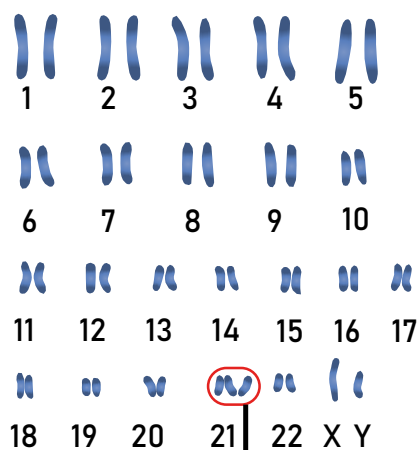
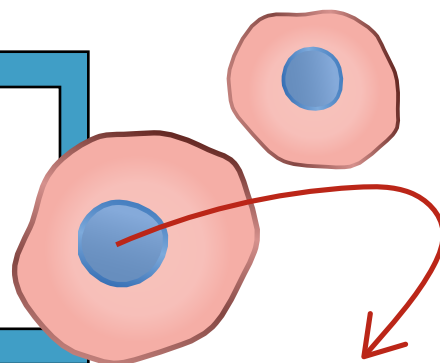
CROMOZOMI DEZECHILIBRAȚI

Se spune că un complement cromozomial este dezechilibrat dacă există material cromozomial suplimentar sau lipsă. În acest caz există un cromozom 21 în plus. Se scrie 47,XY,+21. (47 de cromozomi, masculin și cromozomul suplimentar 21).

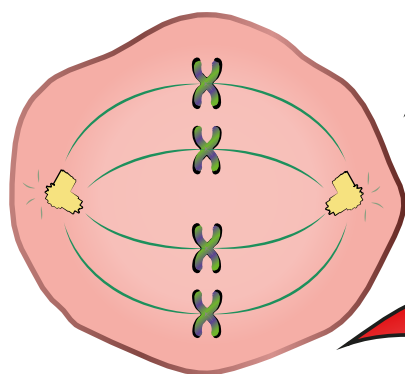


Cariotip 47,XY,+21
- Sindrom Down

Cromozom suplimentar

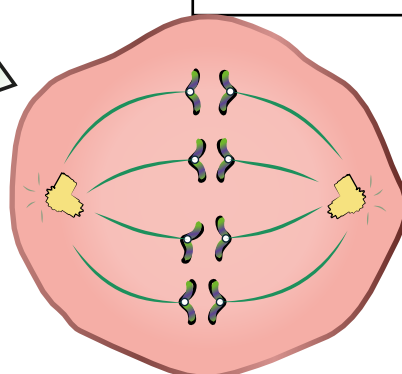


Metafază II

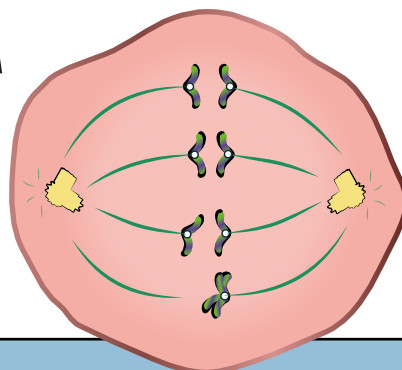


Disjuncție
corectă

Anafază II



Nondisjuncție

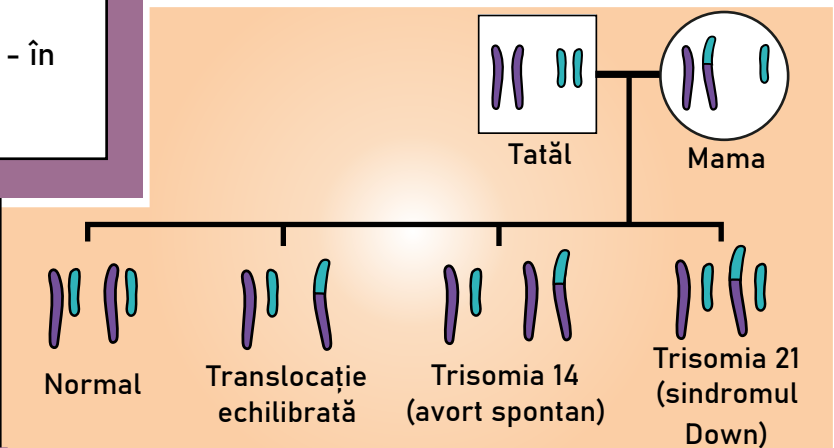
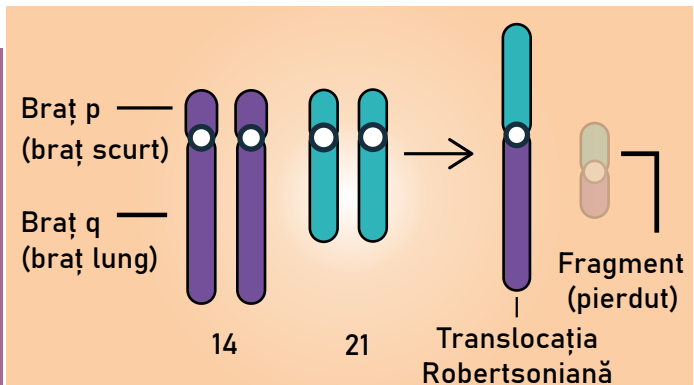


Trisomia 21 cauzează
sindromul Down. Cea mai
frecventă cauză este non-
disjuncția cromozomilor 21
din timpul meiozei.

Translocația Robertsoniană

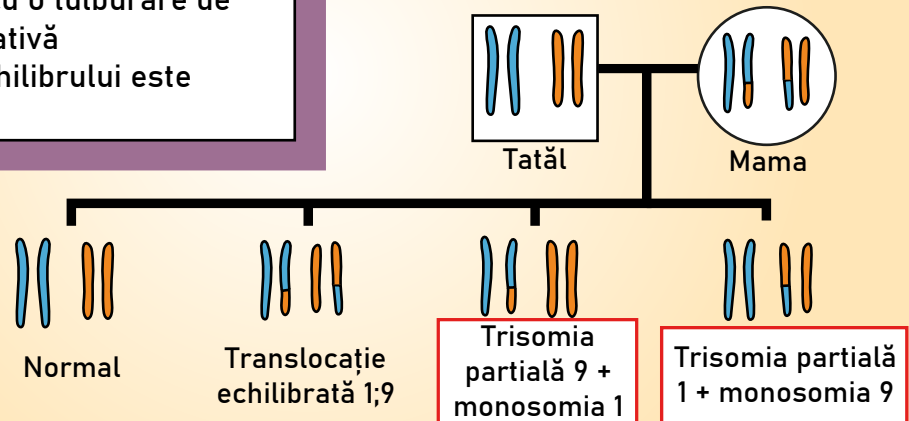
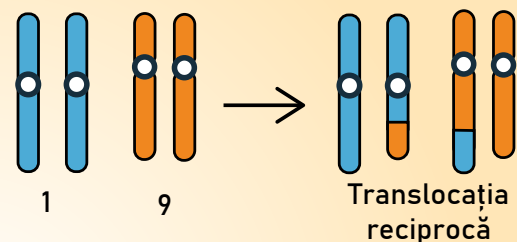
O translocație robertsoniană se produce atunci când doi cromozomi acrocentrici se unesc cap la cap. Brațele scurte "p" sunt pierdute, dar nu conțin gene semnificative în cromozomii acrocentrici. Dacă un părinte are o translocație Robertsoniană echilibrată, exista un risc crescut ca un copil să moștenească cromozomi dezechilibrați - în acest caz, trisomia 21.

TRANSLOCAȚII

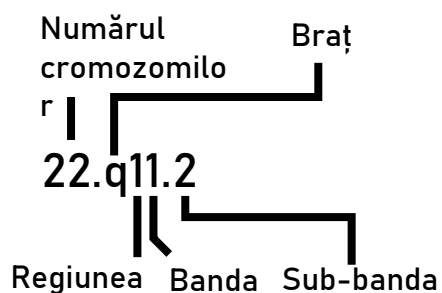


Translocația Reciprocă

În cazul unei translocații reciproce, are loc un schimb de material genetic între brațele cromozomiale. Un părinte cu o translocație reciprocă echilibrată prezintă un risc ridicat de a avea copii cu cromozomi dezechilibrați. Acest lucru poate cauza un avort spontan (dacă dimensiunea dezechilibrului este mai mare) sau un copil cu o tulburare de dezvoltare semnificativă (dimensiunea dezechilibrului este mai mică).



Sindromul DiGeorge (Deleția 22q11.2)

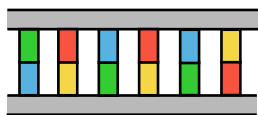


17

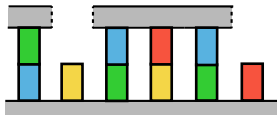
FISH

HIBRIDIZARE FLUORESCENTĂ IN SITU

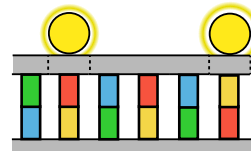
1. Sondă DNA



Sondă
complementară
ADN/ARN



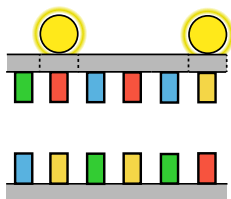
Se crează
rupturi în ADN



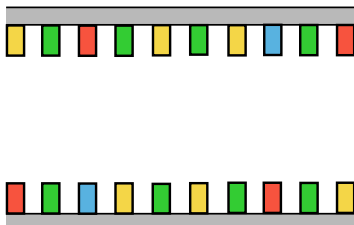
Nucleotidele cu un
fluorofor atașat sunt
încorporate în catenă

2. Denaturarea

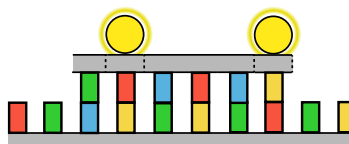
ADN
complementar



ADN țintă
cromozomal



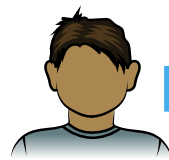
3. Hibridizarea



Hibridizarea fluorescentă în situ este o tehnică care permite vizualizarea unei regiuni cromozomiale specifice mai mari de 500kb. Regiunea este evidențiată prin hibridizarea unei sonde specifice regiunii. În prezent, această tehnică este utilizată în principal pentru detectarea anomaliilor cromozomiale specifice în cancer sau pentru testarea rearanjamentelor echilibrate la persoanele cu risc (părinți ai unui copil cu rearanjare dezechilibrată).



MICROARRAY CROMOZOMIAL



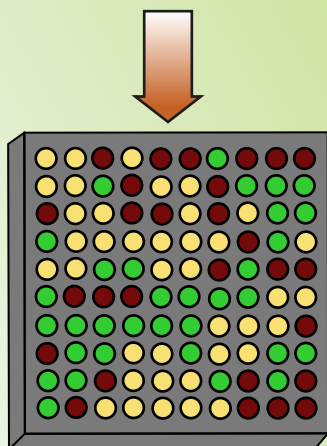
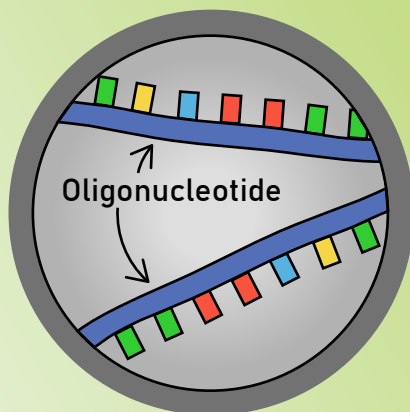
Pacient

Celule albe
din sânge

ADN
fragmentat

Tehnica Microarray (CMA) utilizează legarea ADN-ului pacientului la fragmente specifice cunoscute de ADN pe o lamelă. Acest lucru permite analiza cromozomilor la o rezoluție mult mai mare decât cariotiparea. Pot fi identificate chiar și mici deleții din genom, deși și la cele mai înalte rezoluții, identificarea multor polimorfisme poate fi o problemă, după cum se menționează la paginile 33-34..

Patient DNA



- Legarea puternică a ADN-ului pacientului - duplicare
- Cantitate normală de ADN
- Legarea slabă a ADN-ului pacientului - Deleție

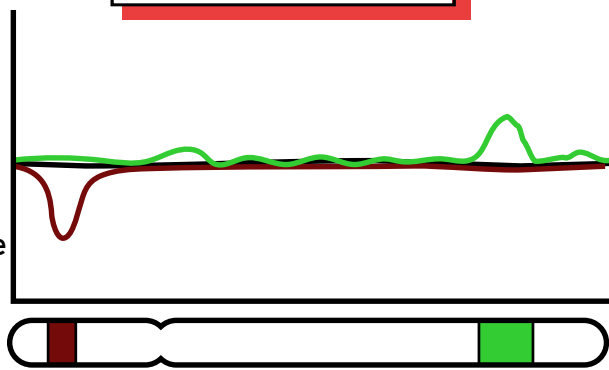
Fiecare punct de pe microarray permite cuantificarea ADN-ului pacientului pentru acea bucată de cromozom. Legarea unei cantități mai mari de ADN decât cel așteptat la un punct indică duplicarea unui segment de cromozom. Legarea unei cantități mai mici de ADN indică o deleție. Microarray-ul cromozomial poate detecta, de obicei, doar rearanjări cromozomiale dezechilibrate.

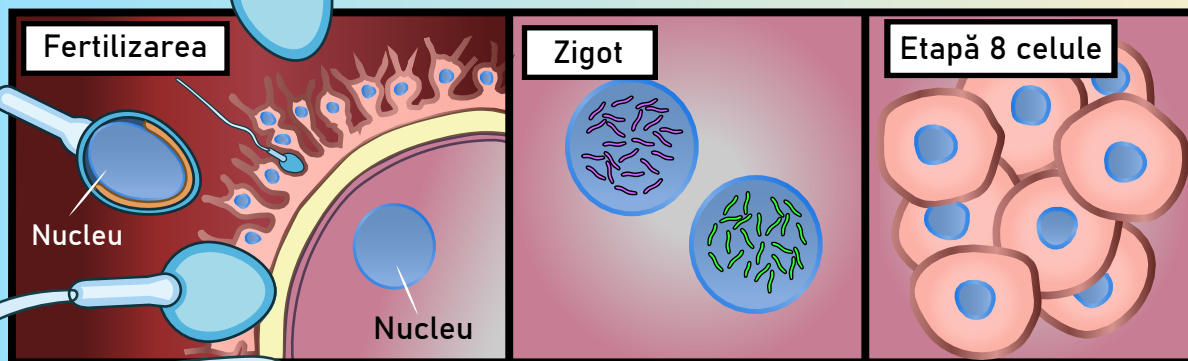
Analiza computerizată
Profil CMA

Caștig



Pierdere



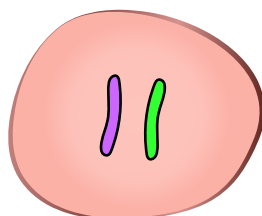
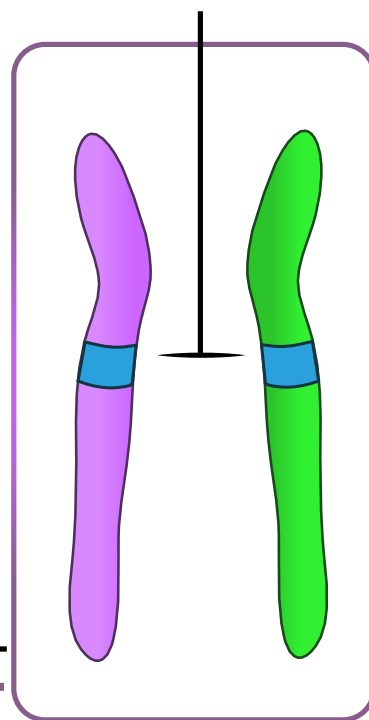


INACTIVAREA X

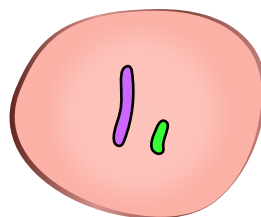
Etapă 1 - Control

Femeile au 2 cromozomi X, dar bărbații au doar 1. La femei, un cromozom X trebuie să se inactiveze. Acest lucru se întâmplă la începutul dezvoltării embrionare și, de obicei, un cromozom X din fiecare nucleu este inactivat la întâmplare, celălalt rămânând activ.

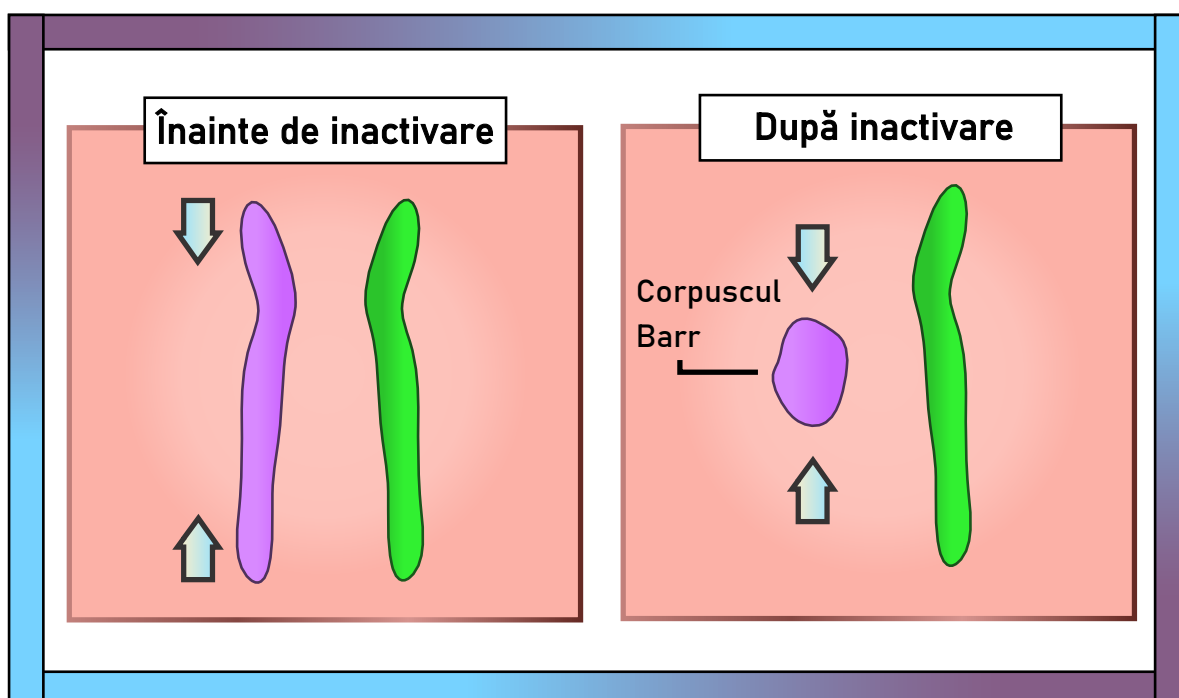
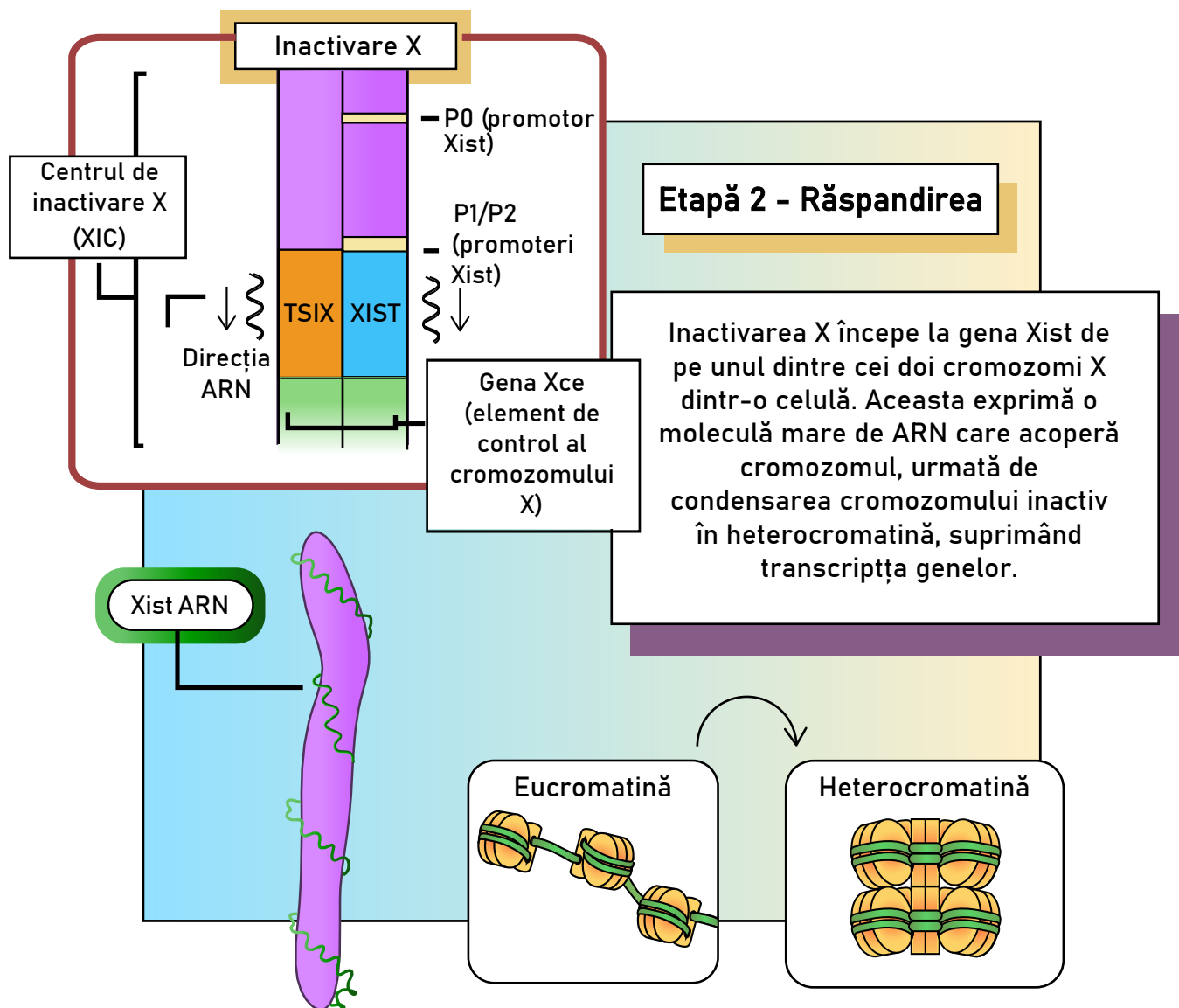
Centrul de inactivare X
(situat în banda Xq13)



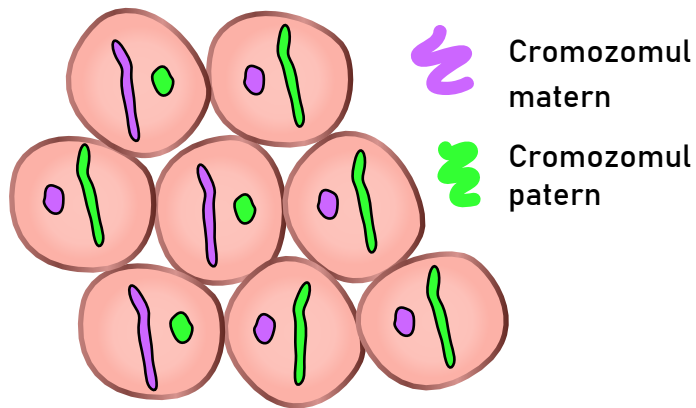
Femeie
X X



Bărbat
X Y



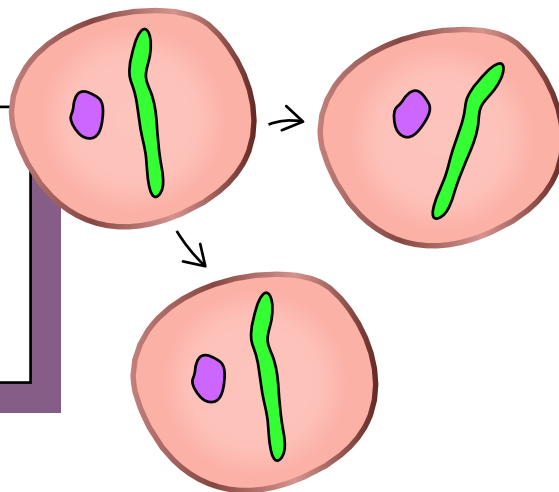
Inactivarea aleatorie a cromozomului X



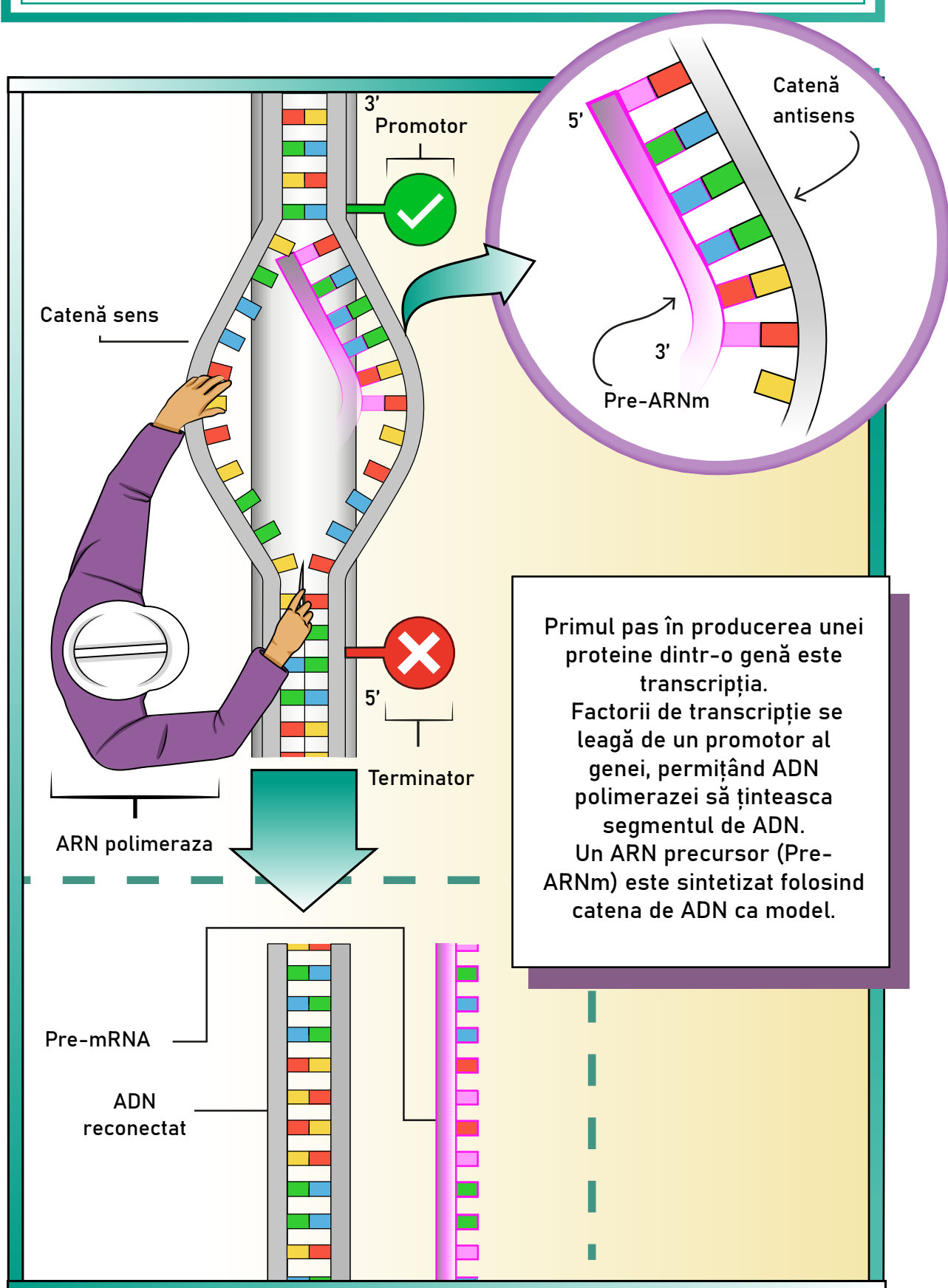
În medie, la femei, 50% din nuclee vor avea cromozomul X derivat matern activ, iar celelalte 50% vor avea cromozomul X derivat patern activ.

Etapă 3 - Întretinere

Modelul de inactivare X rămâne constant pe toată durata de viață a celulei și este menținut în timpul diviziunii celulare. Acesta este eliminat doar în timpul formării celulelor germinale.

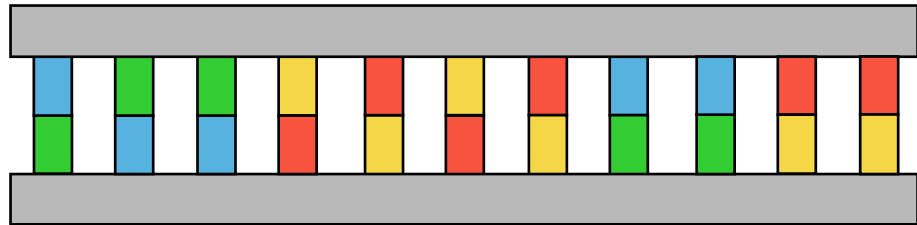


TRANSCRIȚIA ADN



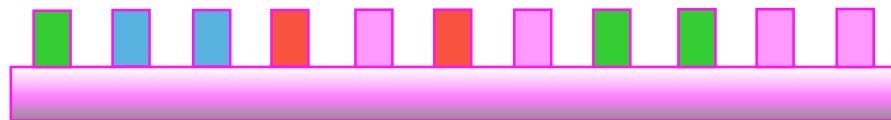
DOGMA CENTRALĂ

ADN



Transcripție

Pre-ARNm



Îndepartarea
intronilor



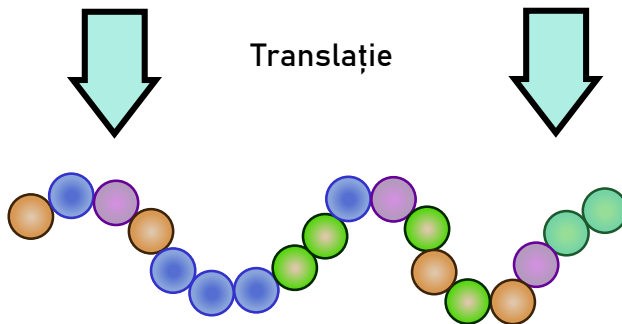
Matisare

ARNm



Translație

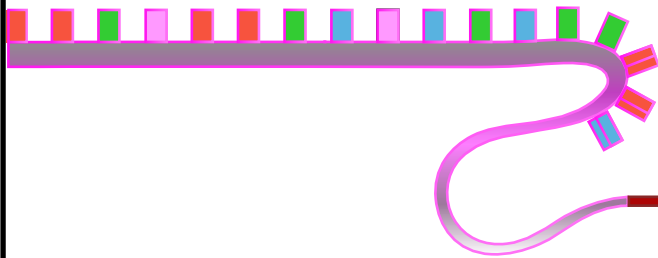
Proteine



MATISARE

ARN precursor va include secvențe din exonii genei (care codifică proteine) și introni (secvențe care nu codifică proteine). Matisarea are rolul de a elimina intronii și a forma ARN mesager matur (ARNm).

Pre-mARN



Exon (regiune codantă)

Intron



Jonctiunea de matisare 5' (Site donor)

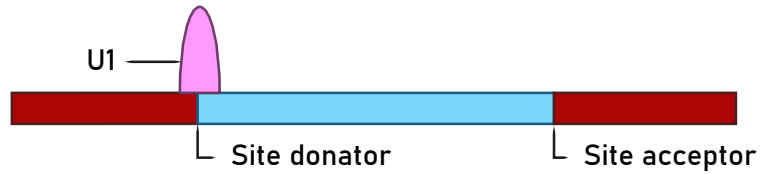


Jonctiunea de matisare 3' (Site acceptor)

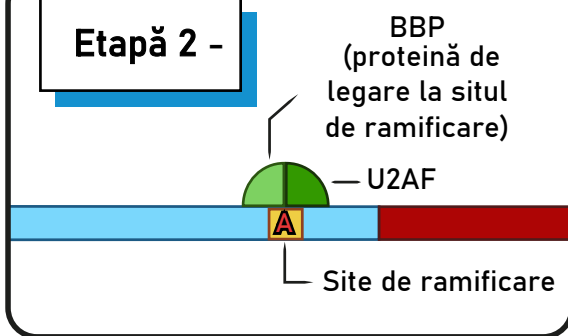


Site de ramificare

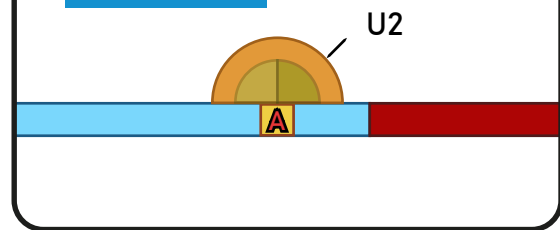
Etapă 1 -



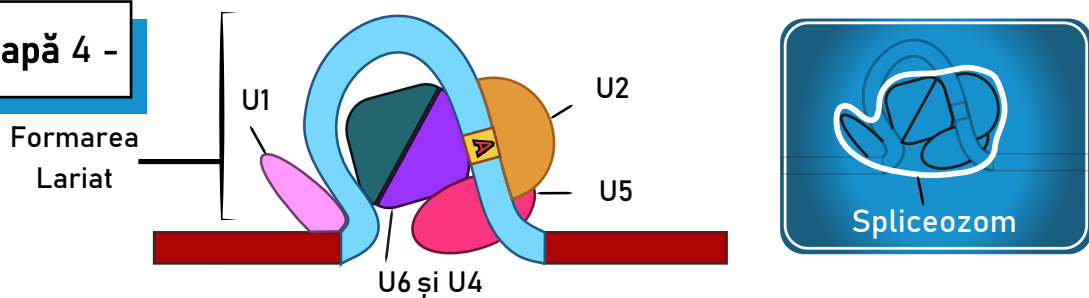
Etapă 2 -



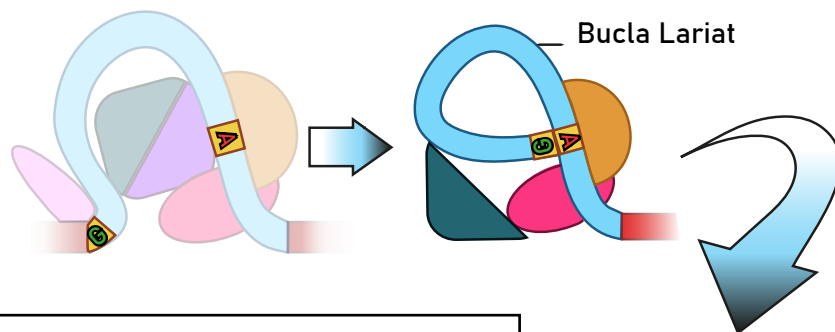
Etapă 3 -



Etapă 4 -



Etapă 5 -



Matisarea are loc în nucleu. Ribonucleoproteinele nucleare mici (SNRP) recunosc secvențe ARN specifice (denumite motive), inclusiv secvențe acceptoare de matisare, donatoare de matisare și lariat, formând un spliceosom. Spliceosomul conține ARN nucleare mici (U1 - U6). Intronul este eliminat și numai secvența exonului rămâne în ARNm matur.

ARNm matur



TRANSLAȚIE

Etapă 1 -

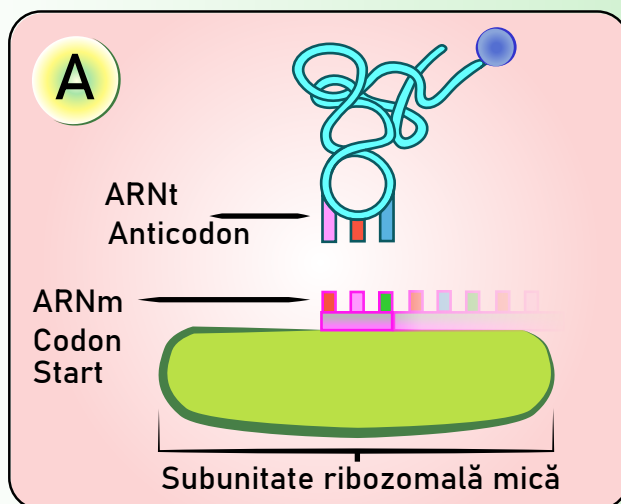
Translația are loc la nivelul ribozomului. Acest ribozom are 2 subunități care sunt formate dintr-o combinație de ARN și proteine.

ARNm

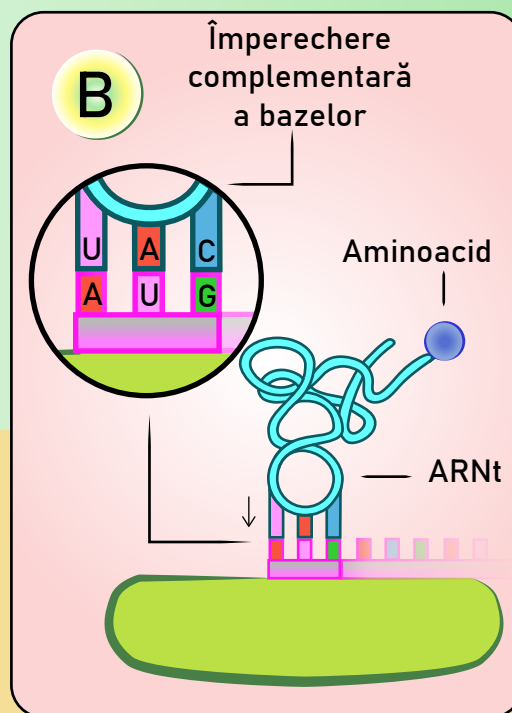
Etapă 2 -

Ribozomi

Membrana celulară



ARN-urile de transfer (ARNt) transportă un aminoacid și se leagă de ARNm. Pentru majoritatea secvențelor de 3 baze din ARNm (un codon) există un ARNt cu un anti-codon corespunzător, care se atașează la un aminoacid specific. Codonul de 3 baze specifică, prin urmare, ce aminoacid trebuie inclus în lanțul peptidic.



Etapă 3 - Elongarea translației

ARNm se deplasează de-a lungul ribozomului, un nou aminoacid fiind inclus în lanțul peptidic pentru fiecare codon de 3 baze.

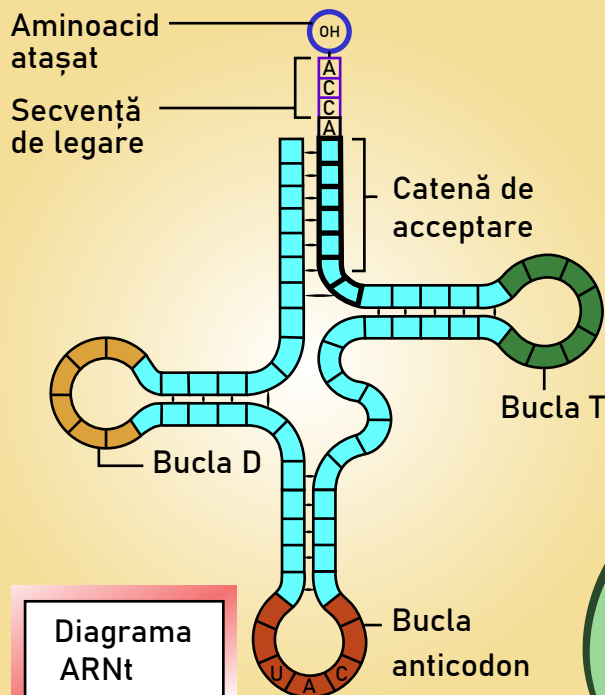
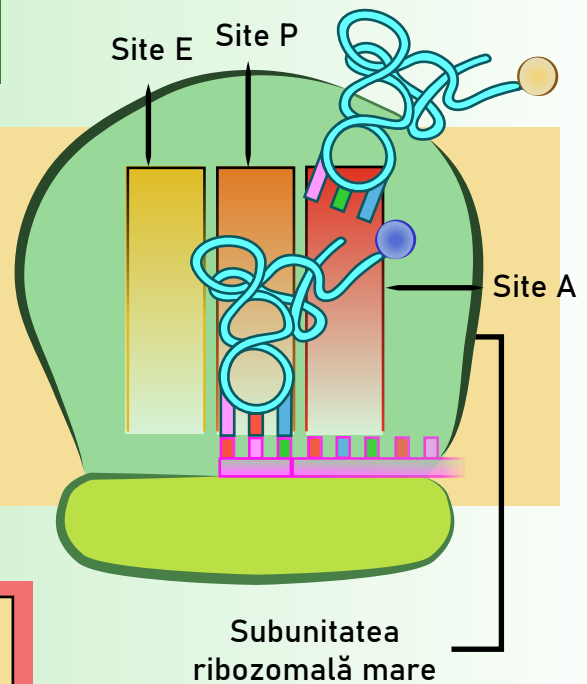
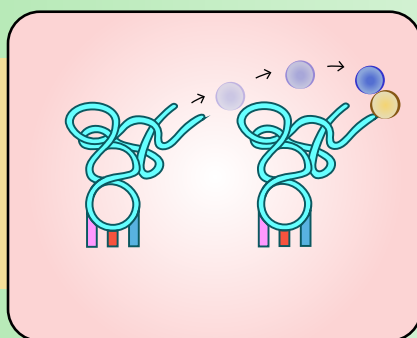
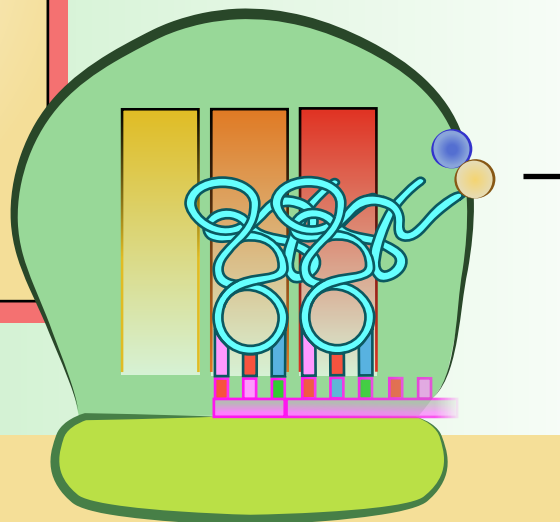
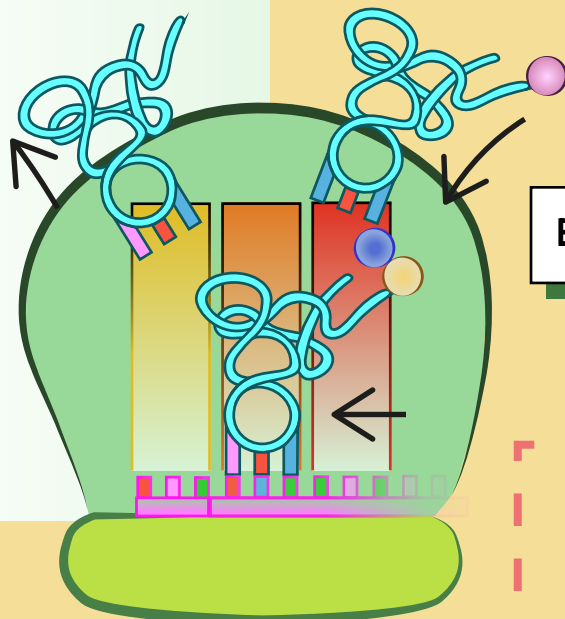


Diagrama ARNt

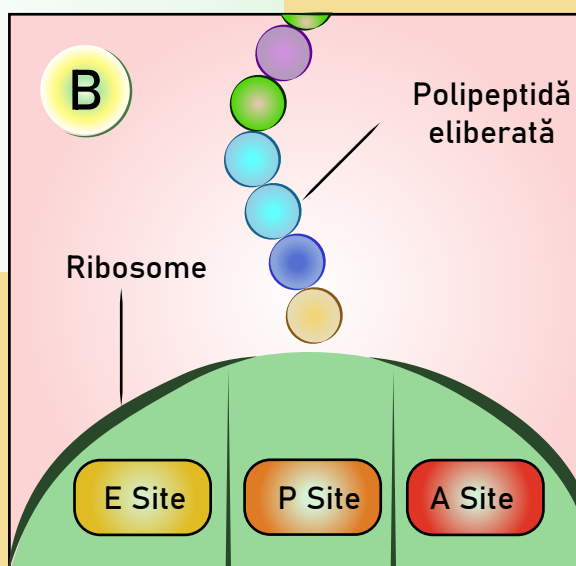
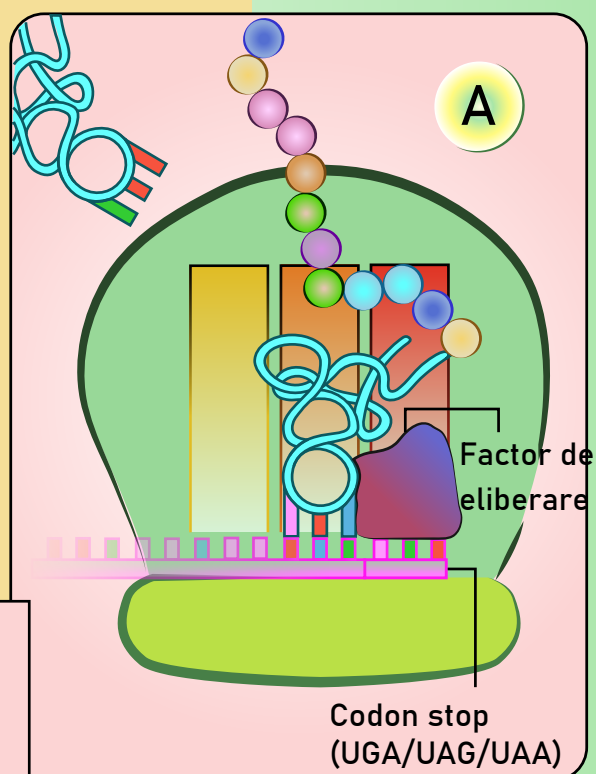
Etapă 4 -





Etapă 5 -

**Etapă 6 - Terminarea
translației**

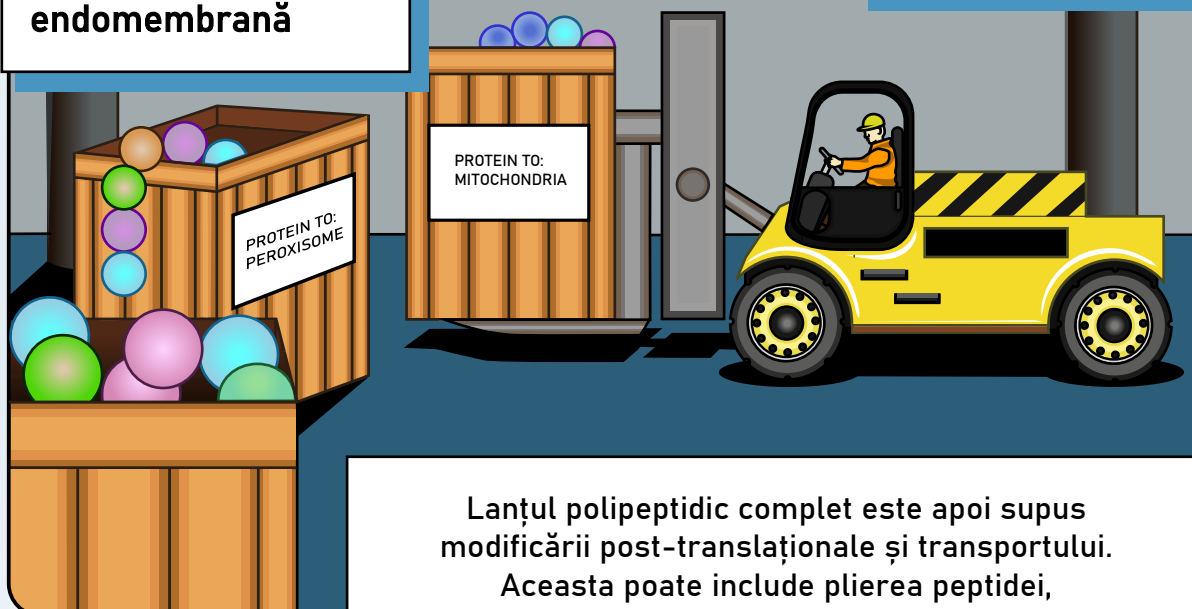


Exista 3 codoni care nu codifică un aminoacid: UGA, UAG și UAA. Atunci când se ajunge la unul dintre acesti codoni "Stop", un factor de eliberare se leagă de ribozom și determină eliberarea peptidei pentru procesare ulterioară.

MODIFICARE POST-TRANSLAȚIONALĂ

Proteine nelegate la endomembrană

Dirjecționarea proteinelor

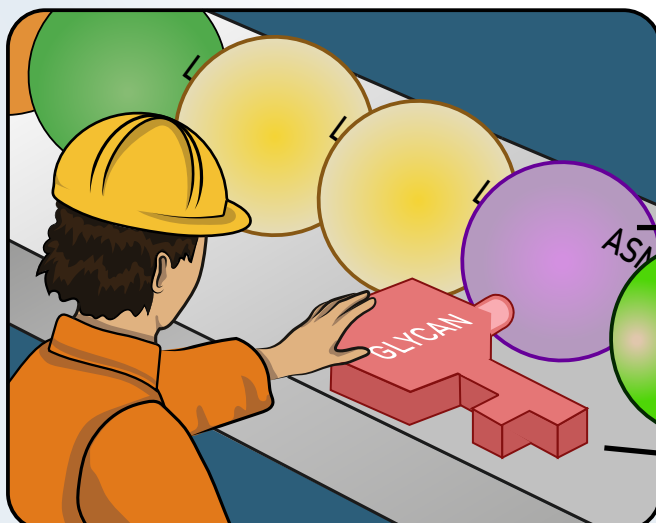
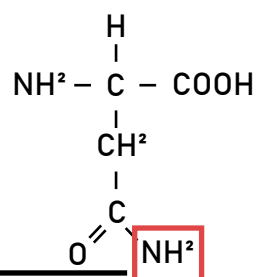


Lanțul polipeptidic complet este apoi supus modificării post-tranlaționale și transportului. Aceasta poate include plierea peptidei, adăugarea de lanțuri laterale suplimentare la anumiți aminoacizi și transportul peptidei la locația subcelulară specifică. De asemenea, se poate asocia cu alte peptide.

Glicozilarea N-linked

Legătură glicozidică la azotul de asparagină

Asparagina

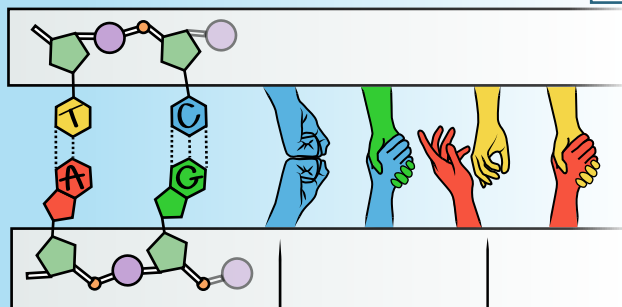


Asparagina

Lanț de aminoacizi

Glican/
Polizaharidă

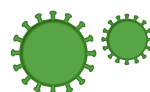
Daune endogene



Potrivire
incorectă

Nucleotidă
deteriorată

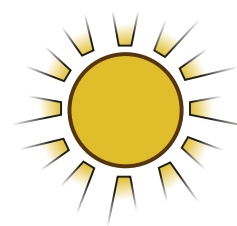
REPARAREA ADN



Virusuri



Toxine



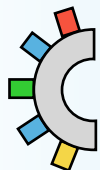
Expunerea la UV

Daune exogene

Repararea unei singure catene



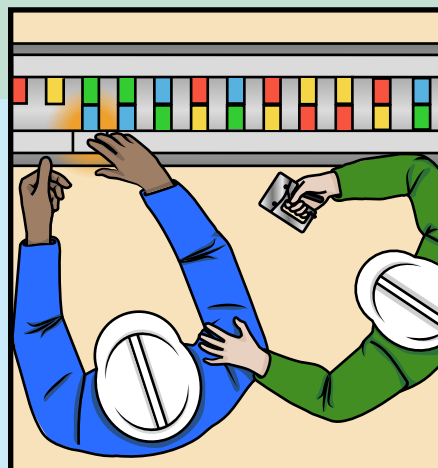
Repararea prin
excizia bazelor



Repararea prin
excizie a nucleotidelor



Repararea nepotrivirii



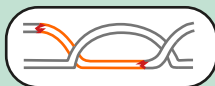
ADN-ul poate fi deteriorat în mai multe moduri, inclusiv prin legături chimice încrucișate, ruperi mono și dublu catenare și încorporarea de baze nepotrivite. Există o serie de căi de reparare specifice pentru aceste leziuni, incluzând repararea prin excizie a bazelor, repararea prin excizie a nucleotidelor și repararea nepotrivirilor.



DNA polimeraza

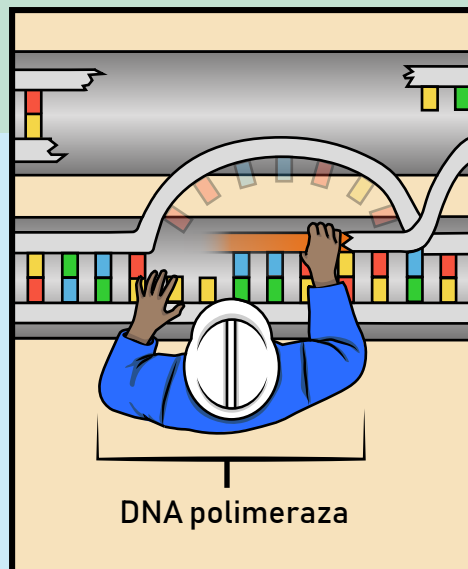
DNA ligaza

Deteriorarea lanțului dublu

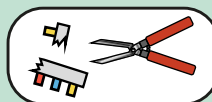


Repararea prin recombinare omoloagă (HRR)

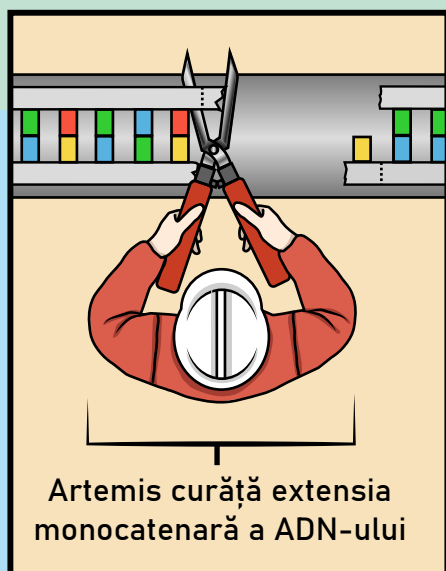
Repararea prin recombinare omoloagă repară ruperile dublu catenare din ADN folosind cealaltă alelă ca model. NHEJ (Non-Homologous End Joining) unește direct catenele rupte și riscă să unească catene de ADN incorecte.



DNA polimeraza



Îmbinarea neomologa a extremităților (NHEJ)



Artemis curăță extensia monocatenară a ADN-ului

O serie de boli umane pot fi cauzate de mutații ale genelor implicate în repararea ADN-ului. Acestea includ sensibilitatea extremă la lumina UV, Xeroderma pigmentosum cauzată de pierderea reparării prin excizie a nucleotidelor. Mutațiile în gena BRCA1 implicată în repararea recombinării omoloage cauzează un risc ridicat de cancer mamar.

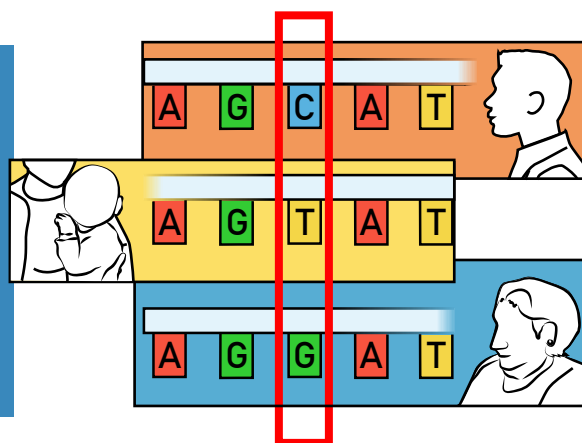
POLIMORFISME

Polimorfismele pot fi de diferite mărimi. Cele mai mici sunt modificările simple ale secvenței de baze (polimorfisme cu o singură nucleotidă). Delețiile și duplicațiile de ADN, de la baze simple până la segmente genomice mari de peste un milion de baze (descrise ca variante ale numărului de copii - CNVs sau variații structurale - SV) pot fi, de asemenea, polimorfisme.



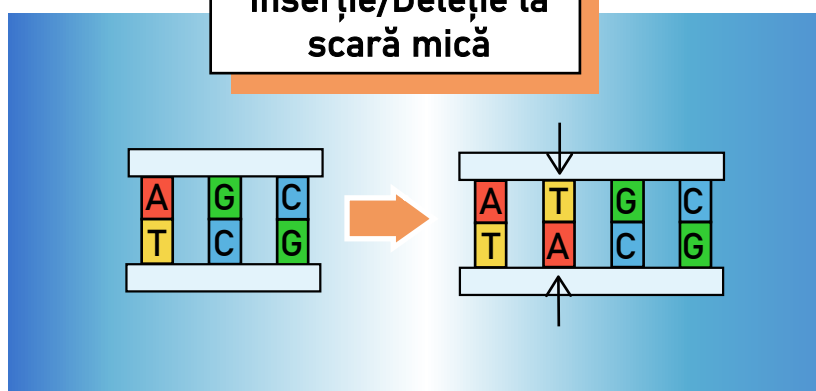
Polimorfisme cu o singură nucleotidă (SNP)

Polimorfismele cu o singură nucleotidă (SNP) sunt răspandite în întregul genom. Ele pot fi găsite în regiunile codante și necodante a genomului. Orice persoană va avea peste 3 000 000 de SNP-uri, variații față de secvență de referință a genomului uman.



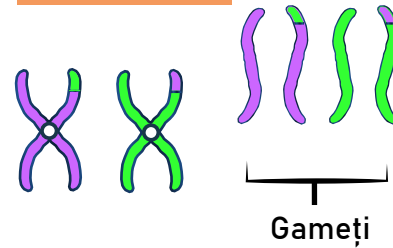
Unele SNP situate în exoni pot afecta secvența peptidică, deși multe nu o fac. Alte SNP se găsesc în secvențe reglatoare din apropierea genelor și pot afecta reglarea genelor. Majoritatea SNP nu au niciun efect.

Insertie/Deleție la scară mică

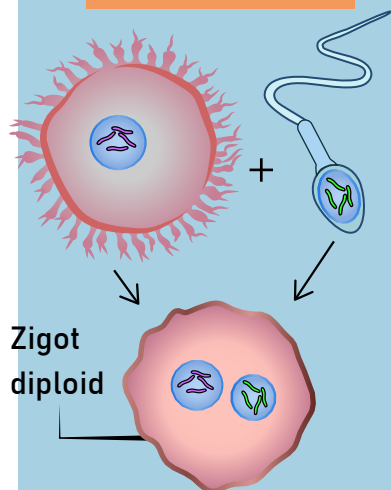


Ideea unei secvențe genomice "normale" nu are sens, deoarece fiecare om va avea o secvență genomică diferită. O secvență de referință, definită de Genome Reference Consortium (GRC), este utilizată pentru a permite descrierea eficientă a variației genetice întâlnite la un individ.

Crossing over

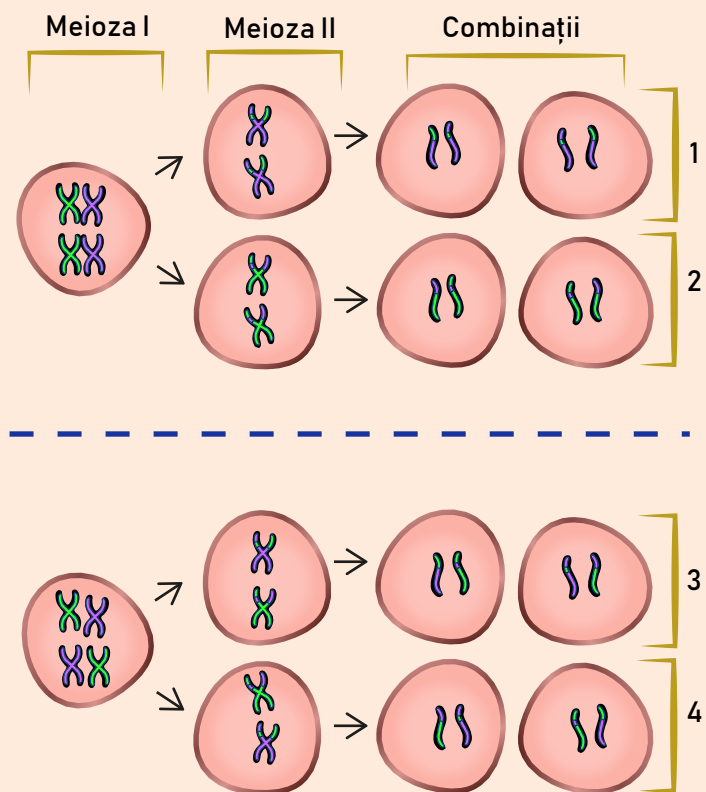


Fertilizarea



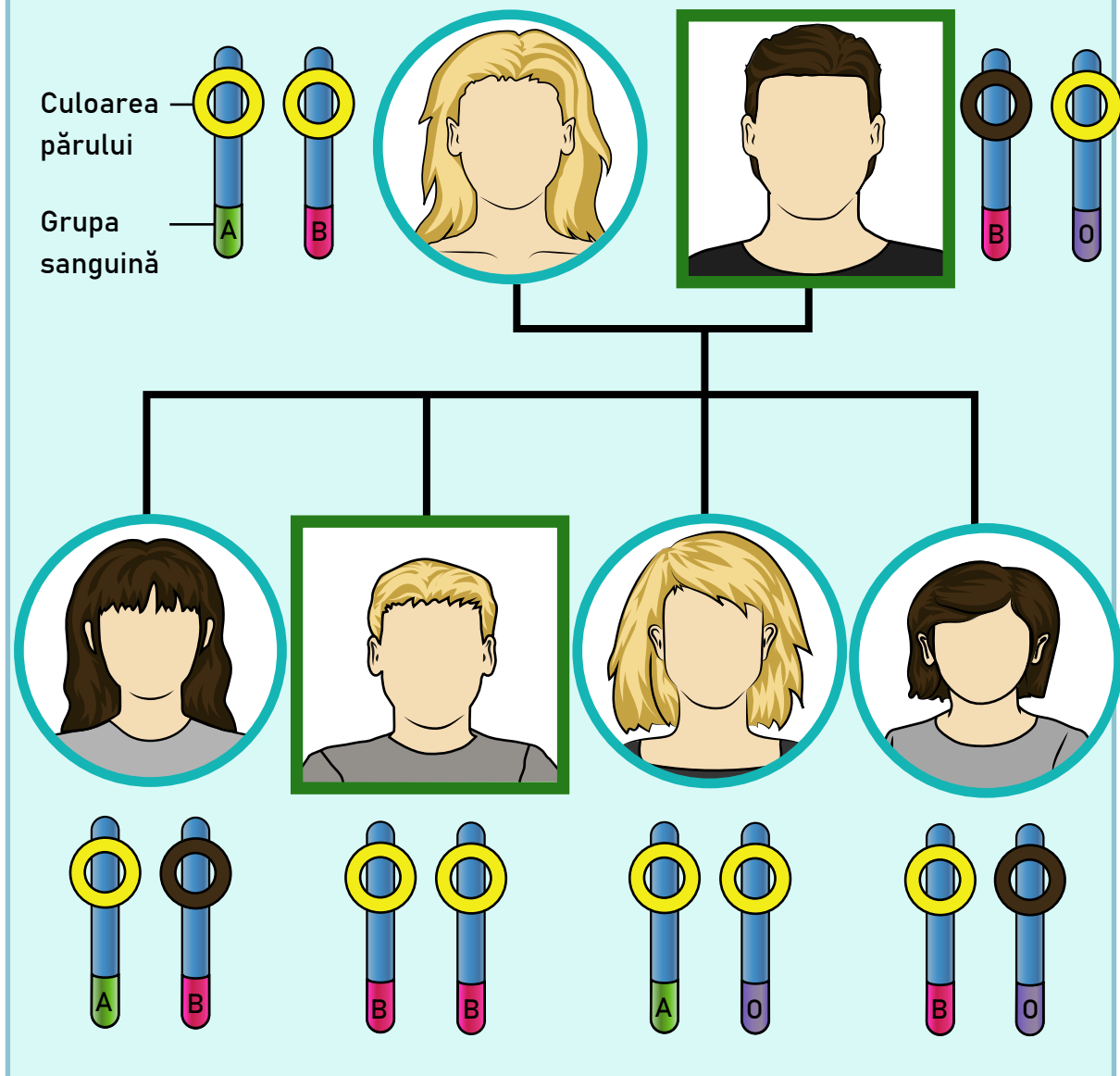
Fiecare copie a genomului uman este diferită. Polimorfismele nu au de obicei niciun efect, dar o parte dintre ele sunt responsabile de diferențele dintre indivizi.

Sortare independentă



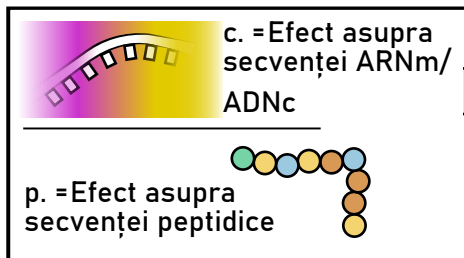
În meioză, aceste polimorfisme se segregă independent în gameți. Aceasta este legea lui Mendel a segregării independente. Recombinarea în meioza I asigură acest lucru.

ARBORELE GENEALOGIC



Atunci când desenăm un arbore genealogic, bărbații sunt în mod tradițional desenați ca pătrate, iar femeile ca cercuri. În acest arbore genealogic, un bărbat și o femeie au împreună 4 copii. Sub fiecare simbol sunt indicate genele de pe același cromozom care controlează culoarea părului și grupa sanguină. Recombinarea asigură segregarea independentă a acestor caracteristici.

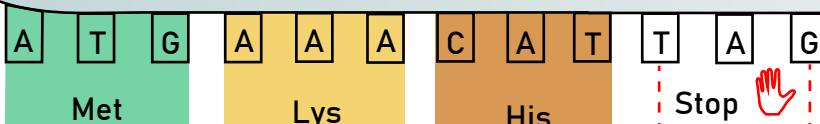
TIPURI DE MUTAȚII ȘI NOMENCLATURA



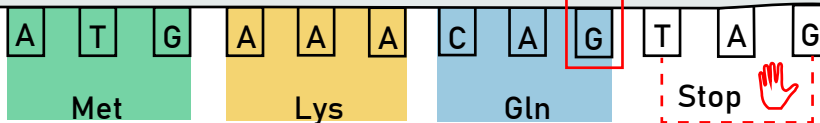
Există un standard internațional pentru descrierea unei mutații, stabilit de Human Genome Variation Society (HGVS). Nomenclatura HGVS pentru o mutație poate fi exprimată ca modificarea secvenței ARNm, notată ca "c.", cu referire la prima bază a secvenței ADN codificatoare care ar produce prima bază a ARNm. Modificarea rezultată în secvența peptidică se referă la primul aminoacid și se notează cu "p."

Mutație punctiformă I

Secvență normală
(tip sălbatic)



Secvență mutantă



c. 9T>G -

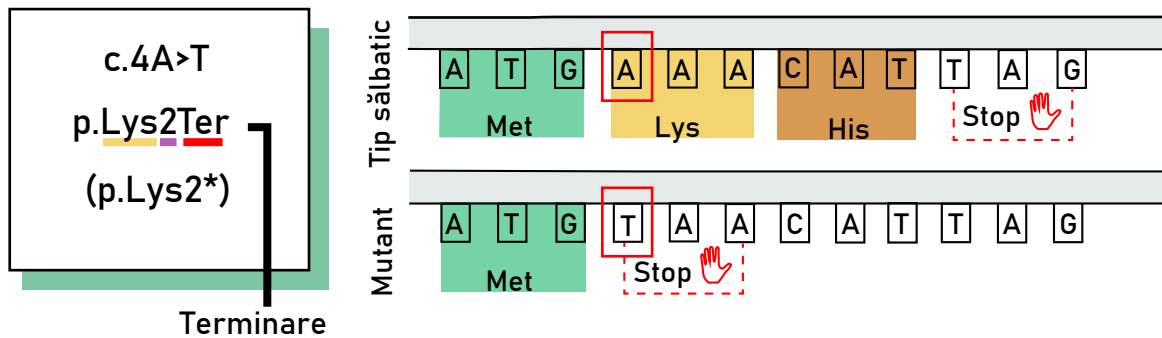
Tip sălbatic	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	A	T	G	A	A	A	C	A	T
Mutant	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	A	T	G	A	A	A	C	A	G

p. His3Gln -

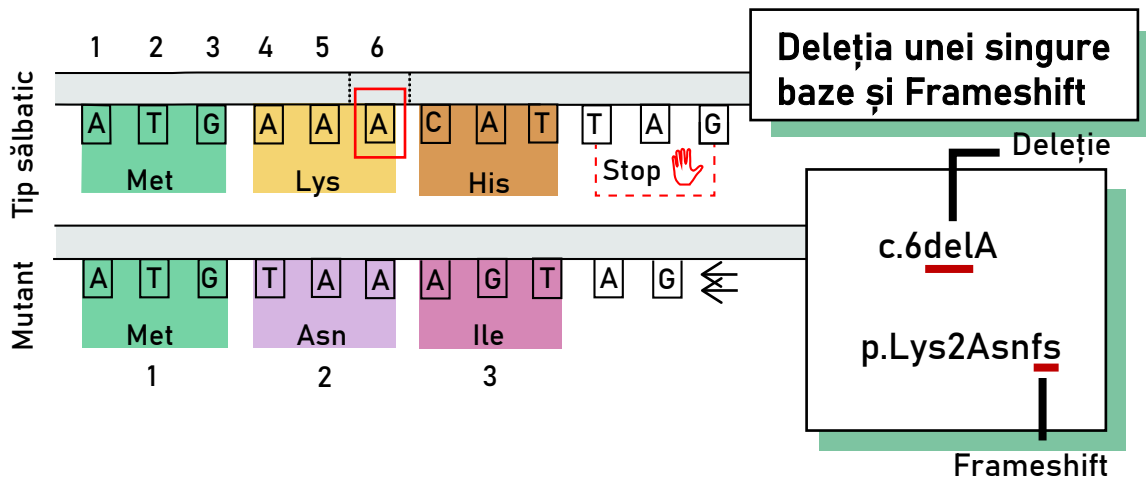
Tip sălbatic	1	2	3
	A T G	A A A	C A T
	Met	Lys	His
Mutant	A T G	A A A	C A G
	Met	Lys	Gln

În această secvență, mutația este de la timină la guanină în baza a noua a secvenței de ADN codant: c.9T>G. Acest lucru face ca al treilea aminoacid din lanțul peptidic să fie o glutamină (Gln) în loc de o histidină (His): p.His3Gln. Aceasta este o mutație Missense tipică.

Mutația punctiformă II



Schimbarea adeninei la timină în poziția 4 a secvenței ADN codante, c.4A>T, determină o schimbare de la un aminoacid lizina la un codon stop, care poate fi scris astfel:
p.Lys2Ter sau p.Lys2*.



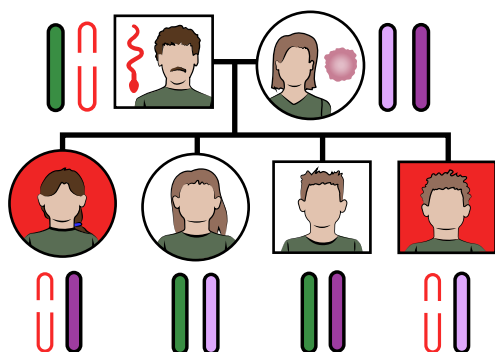
Deleția unei singure baze la poziția 6, scrisă ca c.6delA, cauzează o modificare a aminoacidului și apoi un frameshift în aval la translația, p.Lys2Asnfs.

Exemplu	Diagrama	Efect p.
c.366C>A	Localizarea proteinei	p.Ile122Ile Fără efect
c.164A>G		p.Ile122Val Missens
c.360T>A	Stop	p.Cys120Ter Oprire prematură/ Nonsens
c.165del		p.Ile122Thrfs Deleția determină trecerea de la Ile la Thr și Frameshift

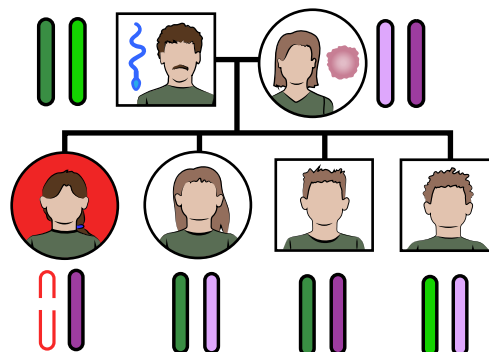
DE UNDE PROVIN MUTAȚIILE?

Mutațiile care cauzează boli pot segrega în familii, fiind moștenite pe linia germinală. Mutațiile pot apărea și în timpul gametogenezei - aceste mutații "de-novo" sunt o cauză frecventă a tulburărilor de dezvoltare la copii. Mutațiile punctiforme "de-novo" sunt mai frecvente pe linie paternă, cu un risc mai mare odată cu înaintarea în vârstă a tatălui.

Mutație germinală

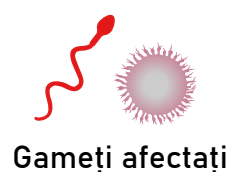
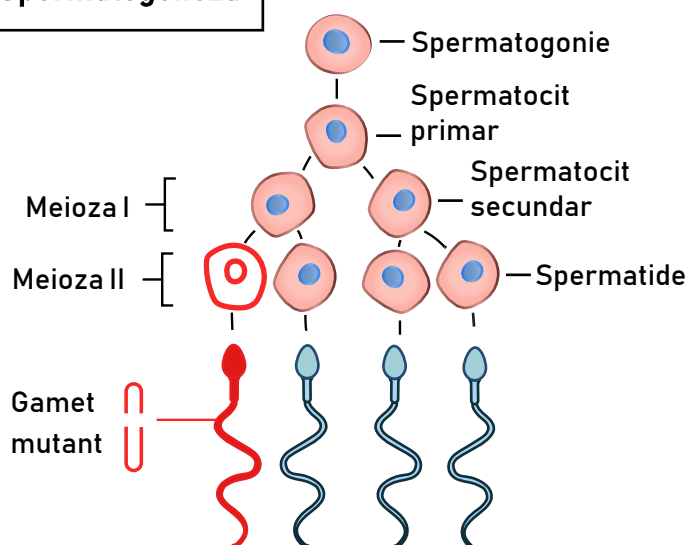


Mutație de novo

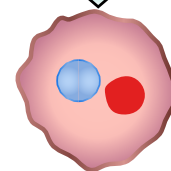


Mutația în timpul gametogenezei

Spermatogeneza

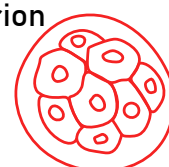


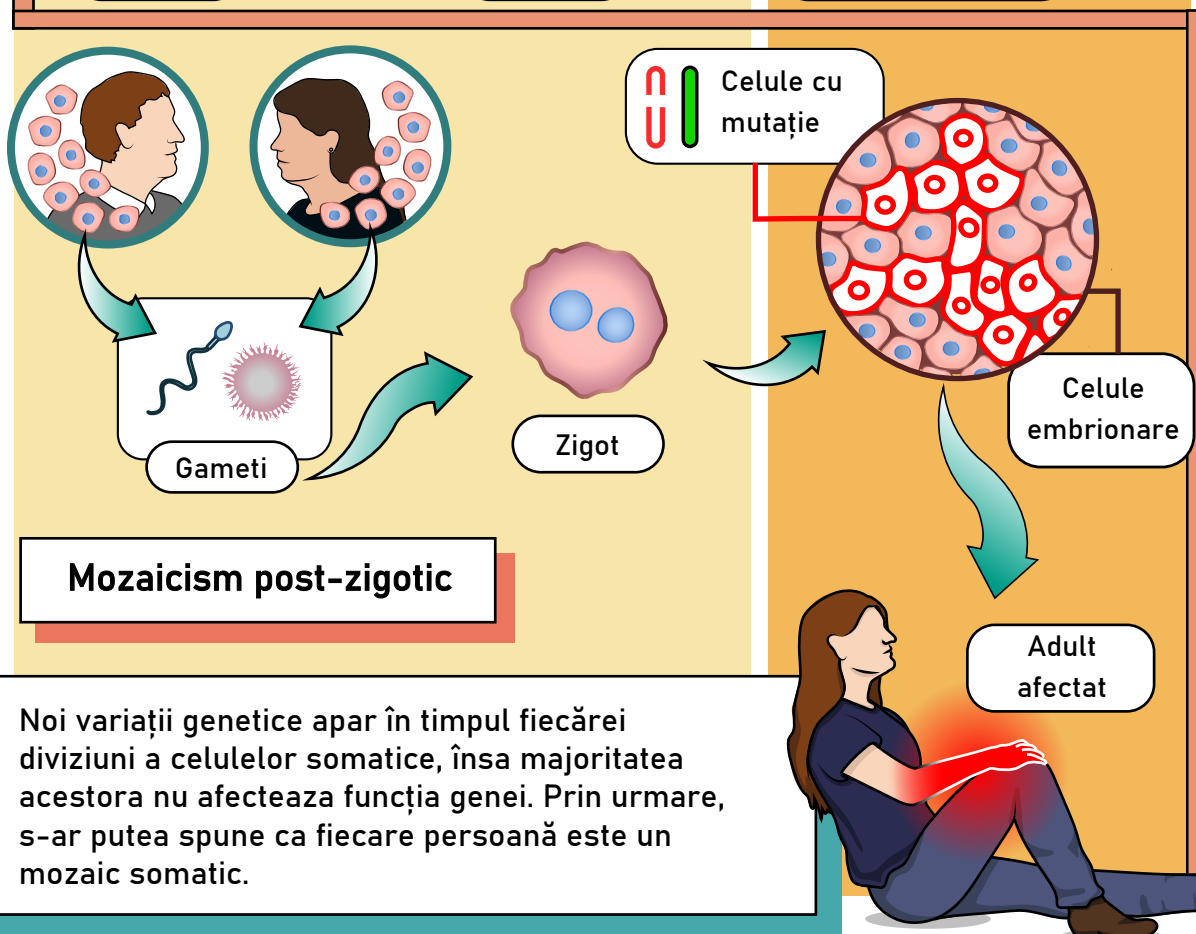
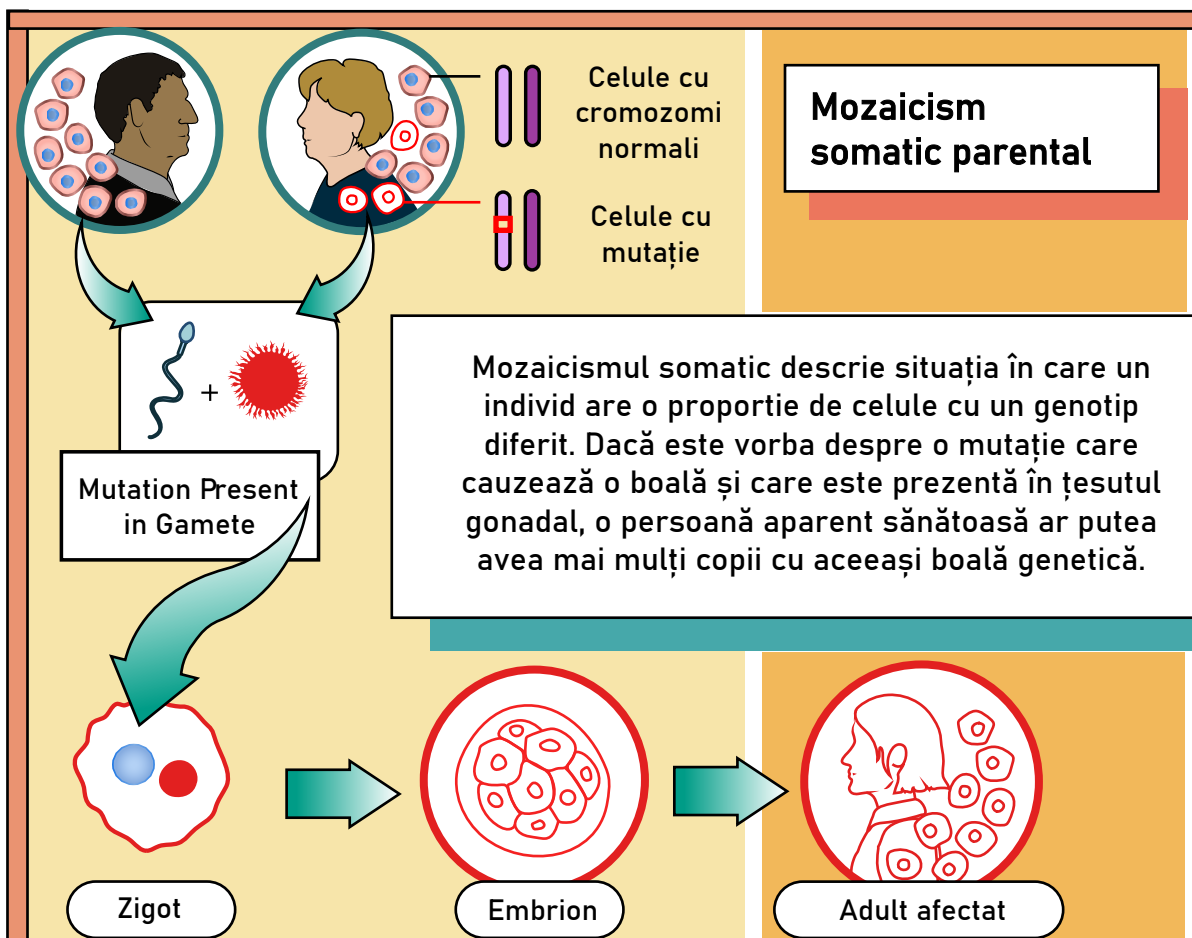
Gameți afectați

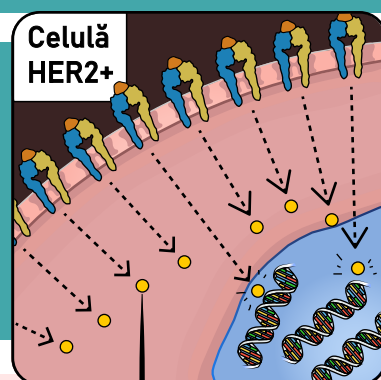
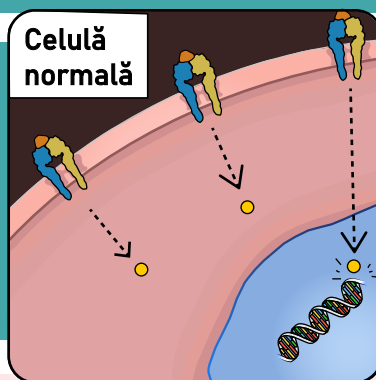
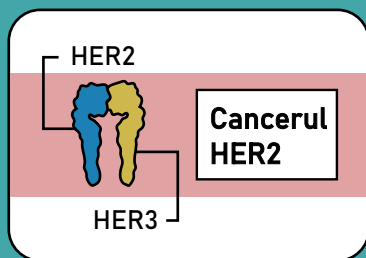


Zigot

Embrion





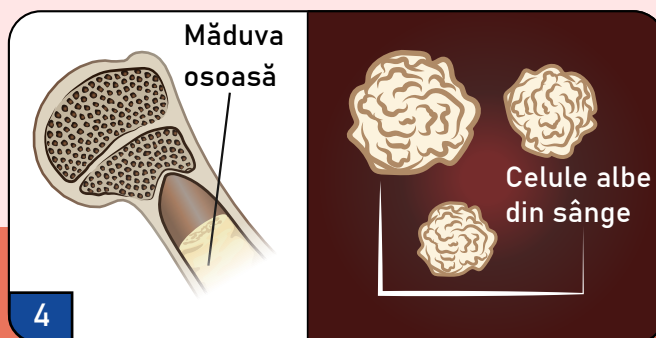
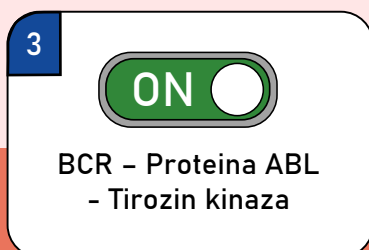
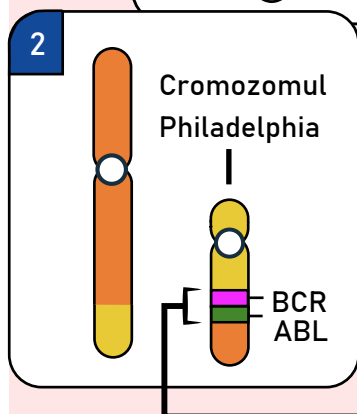
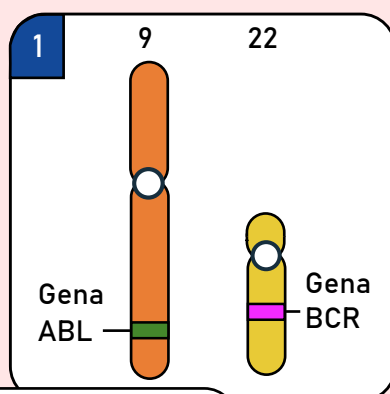


Genele HER2

Calea de semnalizare

MUTAȚIILE SOMATICE ȘI CANCERUL

Cromozomul Philadelphia

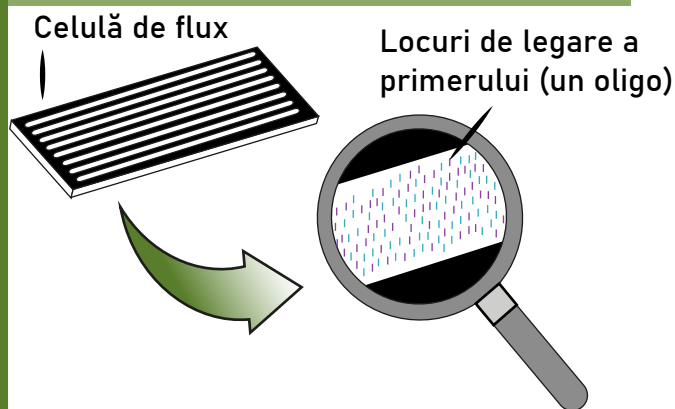


Formarea cancerului se datorează în mare parte acumulării de mutații somatice în celule. Aceste mutații permit celulelor să dobandească caracteristici precum proliferarea necontrolată sau capacitatea de metastazare.

Un exemplu de mutație somatică cauzatoare de cancer este cromozomul Philadelphia. Acesta este o translocăție între cromozomul 9 și cromozomul 22 care activează oncogene ABL, un eveniment major în cauzarea leucemiei mieloide cronice (LMC). Medicamentul Imatinib vizează în mod specific oncogene ABL și este un tratament foarte specific și eficient.

SECVENȚIEREA DE NOUĂ GENERAȚIE

Secvențierea de nouă generație (Next Generation Sequencing - NGS) descrie o serie de tehnologii care pot secvenția cantități mari de ADN. Aceste tehnologii fac posibilă secvențierea întregului genom al unei persoane pentru un cost acceptabil, într-o perioadă scurtă de timp. Majoritatea tehnologiilor actuale separă ADN-ul genomic în fragmente și secvențiază un număr foarte mare din aceste fragmente.



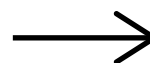
Secvență de referință

A G C C G A G A T G A C T A C A T C A A G C T



Alelă normală

A	T	G	A	C
A	T	G	A	C
A	T	G	A	C
A	T	G	A	C

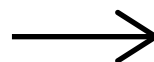


ATGAC



Alelă mutantă

A	T	C	A	C
A	T	G	A	C
A	T	C	A	C
A	T	G	A	C

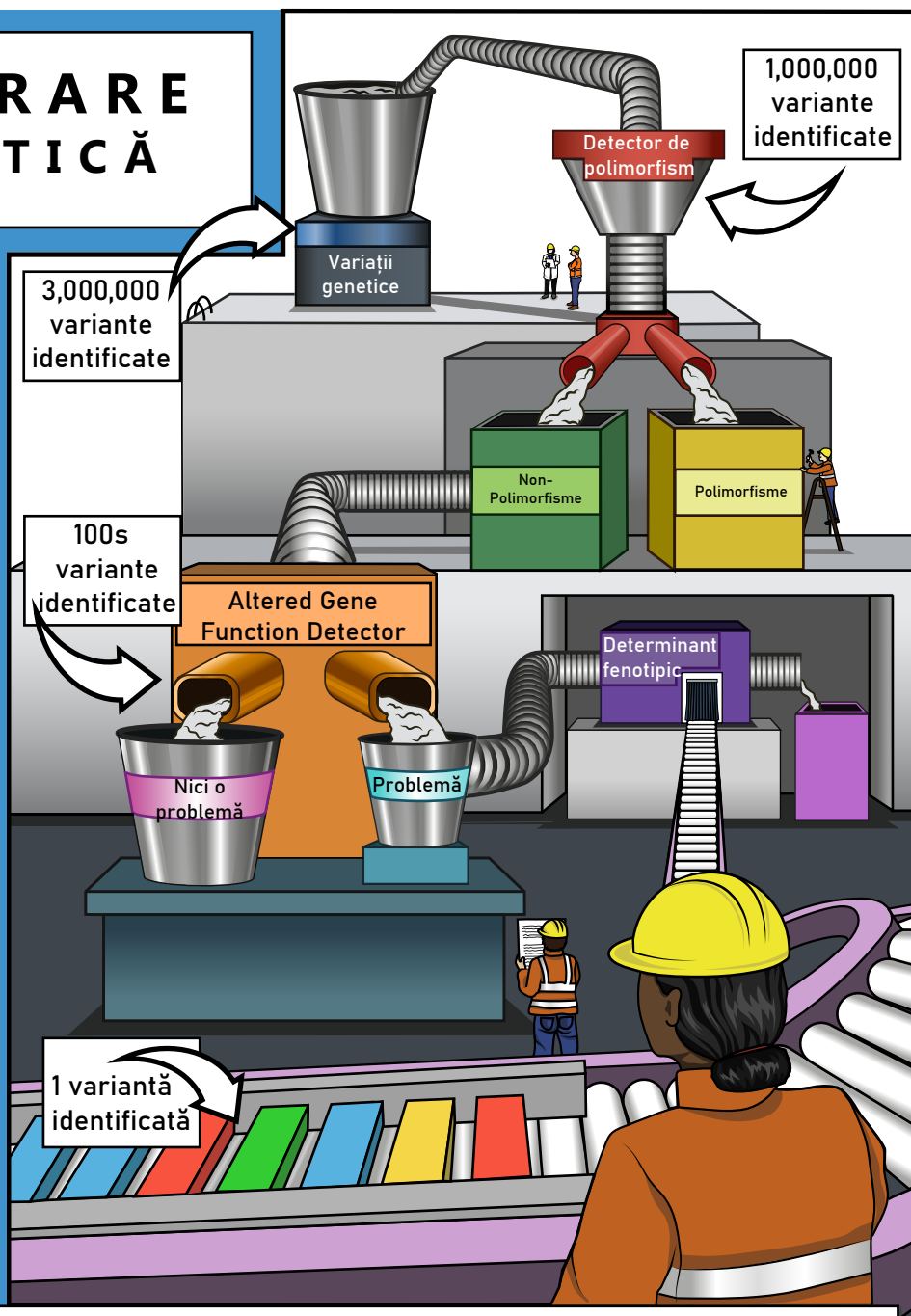


ATCAC

Analiza datelor

Secvențele fragmentelor sunt aliniate la o secvență de referință a genomului. Dacă există o variantă într-o copie a genomului (ținând cont de faptul că oamenii sunt diploizi), jumătate din secvențe vor arată variația genetică în comparație cu secvență de referință.

FILTRARE GENETICĂ



În medie, aproximativ 3 000 000 de variante sunt detectate atunci când se secvențiază întregul genom al unei persoane, acestea fiind polimorfisme. De obicei, căutăm o singură variantă patogenă (mutație).

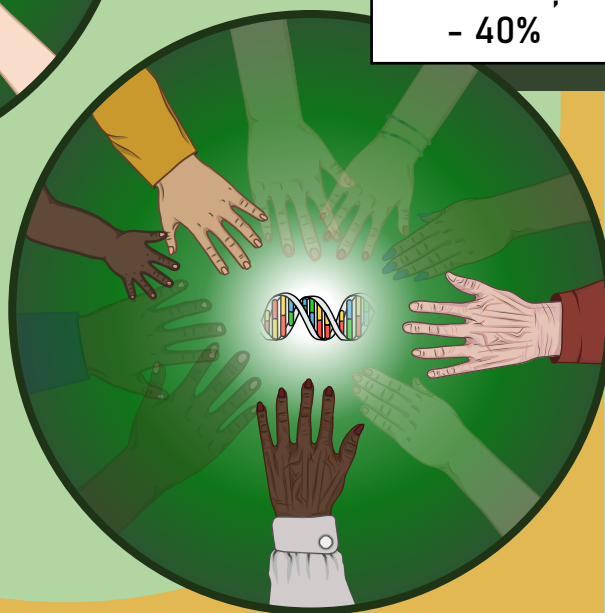
Pentru a identifica această variantă patogenă, lista de variante este filtrată pentru a le elimina pe cele care nu sunt susceptibile de a provoca boală - de exemplu, pentru o boală rară, variantă nu va fi un polimorfism, va avea un efect critic asupra genei, iar gena afectată va fi una despre care se știe că provoacă fenotipul.

Dacă o singură variantă îndeplinește aceste criterii, aceasta poate fi varianta care cauzează boală la individ.

PENETRANȚA ȘI MOȘTENIREA MENDELIANĂ



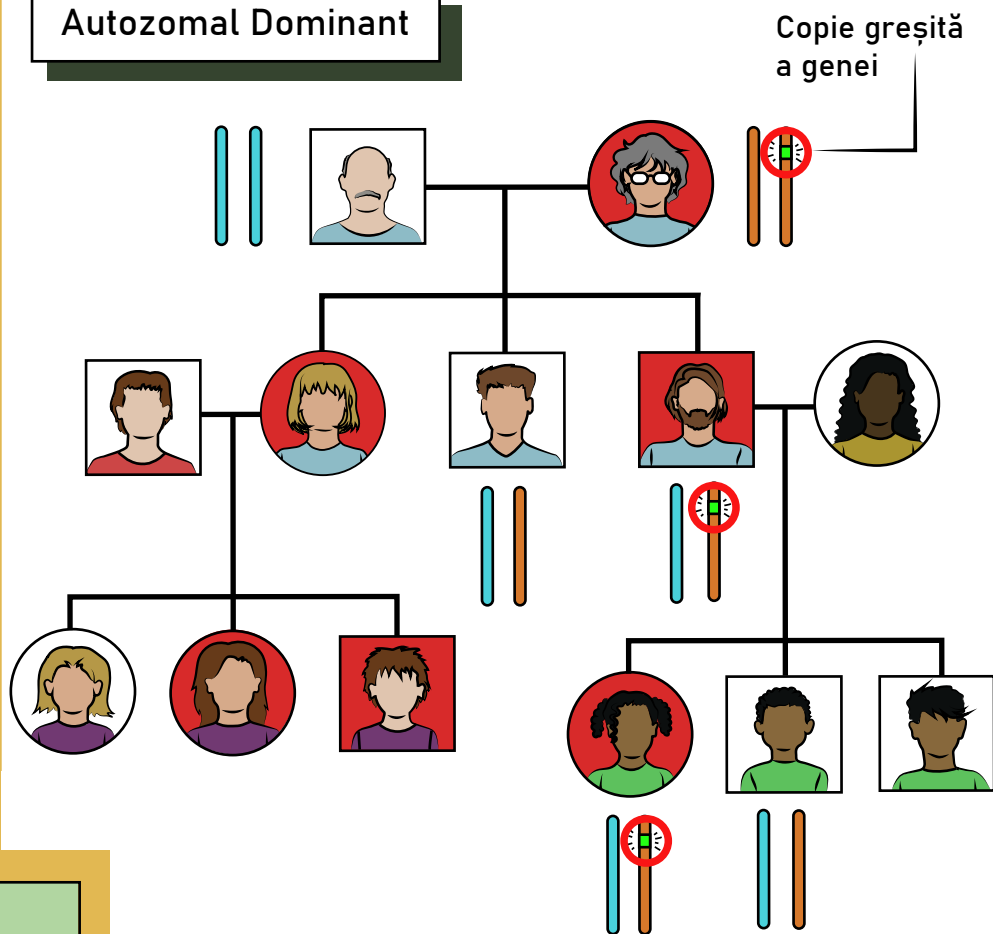
Penetranță
- 100%



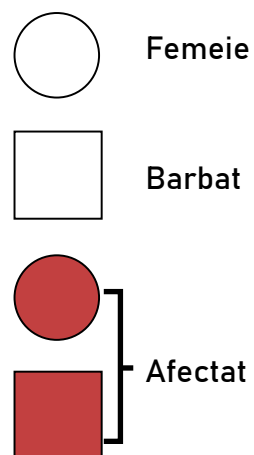
Penetranță
- 40%

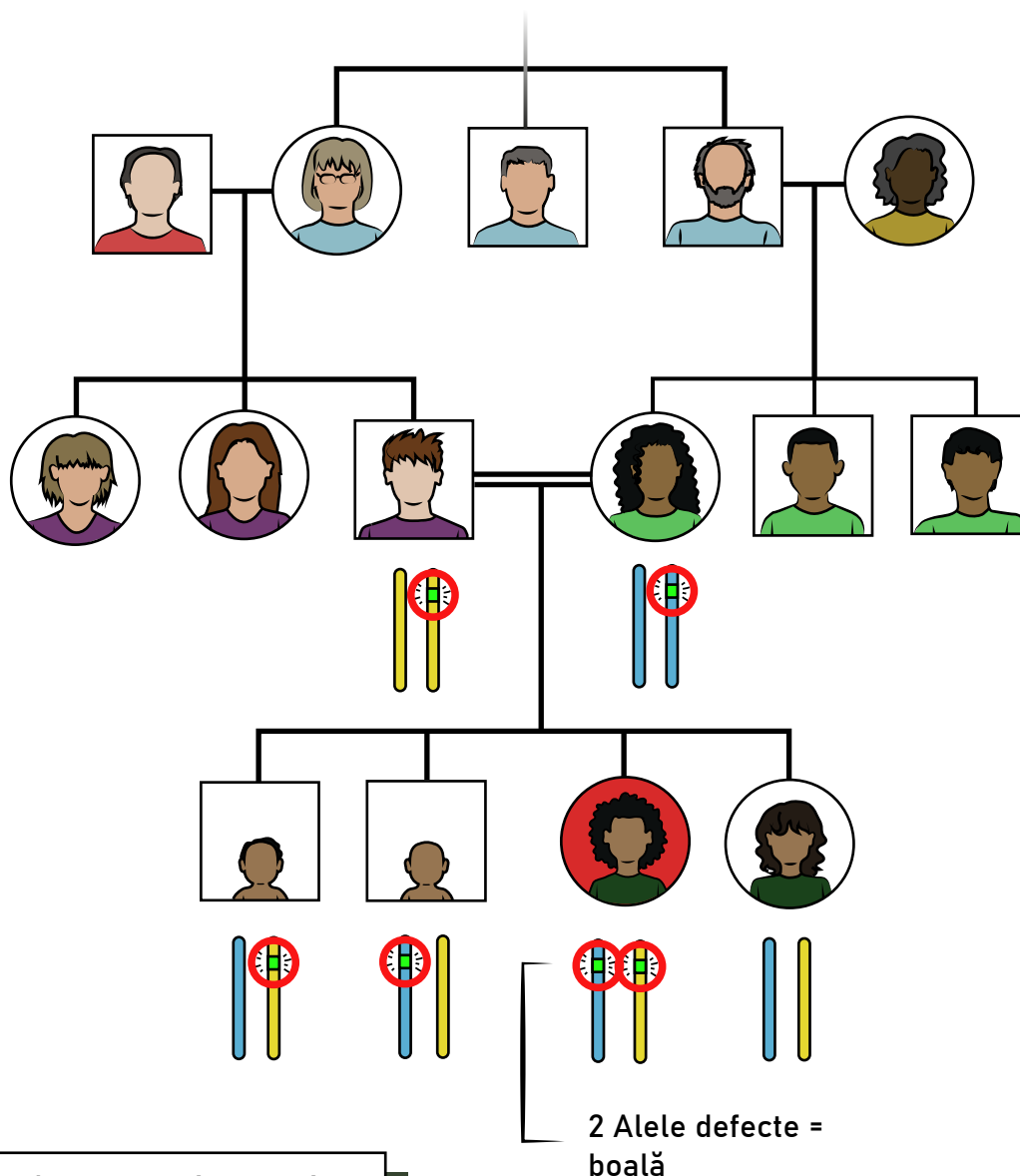
"Penetranța" unei mutații este probabilitatea ca aceasta să cauzeze un fenotip de boală la un individ. Dacă penetranța unei mutații este de 100%, toți cei care au varianta vor avea boală. Dacă penetranța este de 40%, doar 40% dintre persoanele cu mutația vor fi afectate.

Autozomal Dominant



În cazul moștenirii autozomal dominante, o singură alelă defectă (copie a genei, descrisă ca variantă patogenă) este suficientă pentru a provoca boală. O persoană afectată are o șansă de 50% de a transmite copilului varianta patogenă. Boala apare de obicei la fiecare generație, bărbații și femeile fiind afectați în egală măsură.





Autozomal recesiv

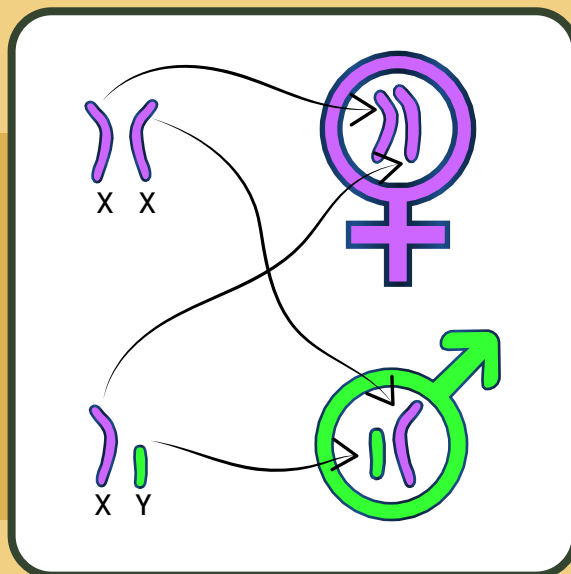
Fîn cazul moștenirii autozomal recesive, o persoană afectată are două alele defecte (variante patogene care afectează ambele copii ale genei). De obicei, ambii părinți poartă o alelă modificată și o alelă funcțională. Acest lucru se întâmplă mai frecvent la părinții consanguini. Riscul ca un copil să fie afectat este de 1 la 4, iar jumătate dintre copii vor fi purtători ai unei variante patogene.

Moștenire legată de X

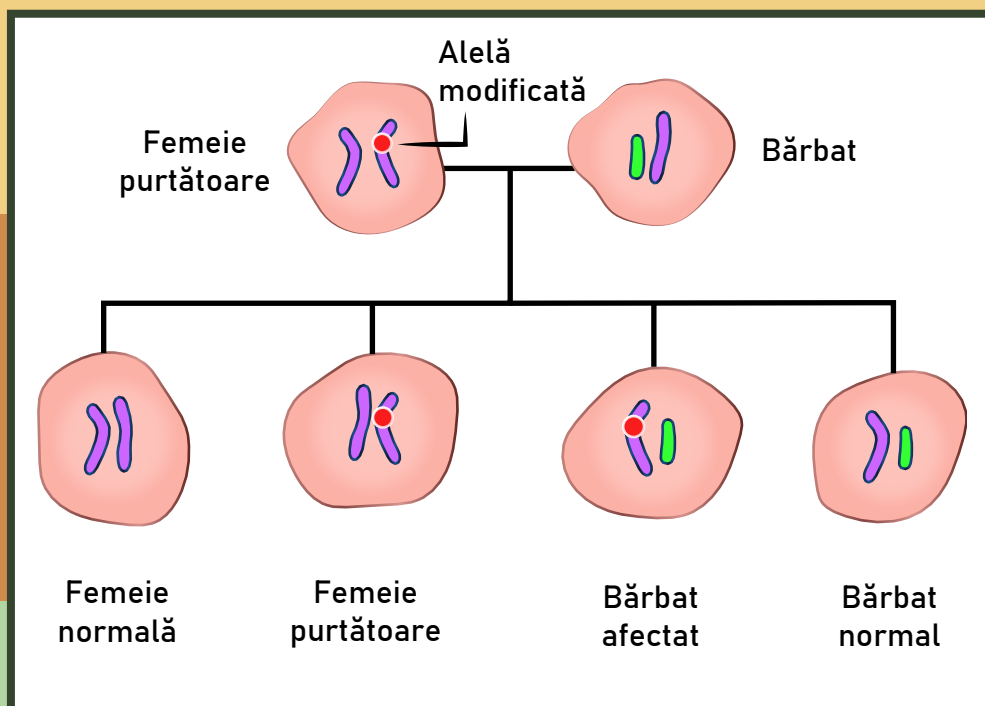


153 de milioane de perechi de baze

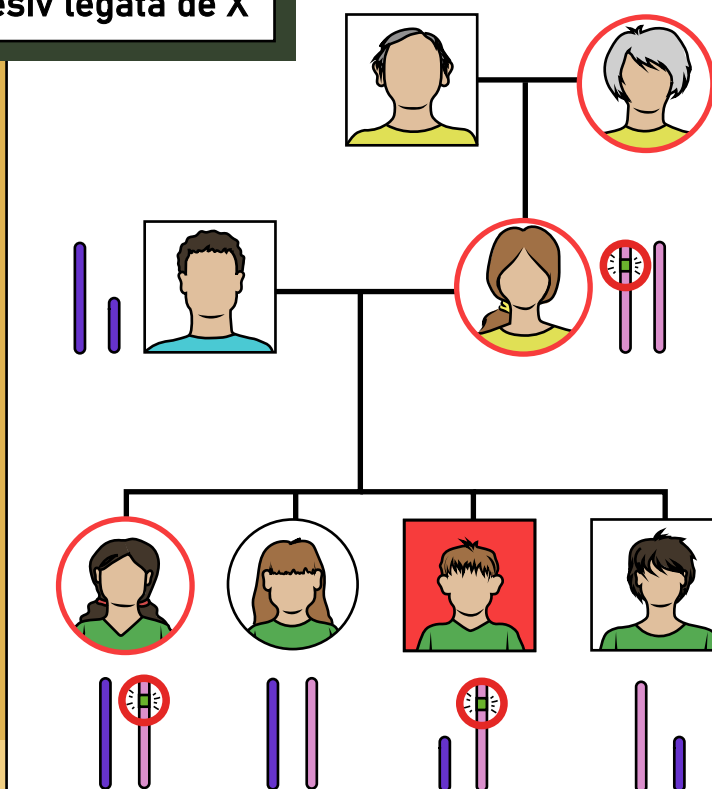
58 de milioane de perechi de baze



Moștenirea legată de X apare atunci când varianta patogenă se găsește pe cromozomul X. Moștenirea recesivă legată de X descrie situația în care o femeie cu o alelă patogenă și o alelă normală nu prezintă caracteristicile clinice majore ale bolii, dar un barbat cu o singură alelă modificată va fi complet afectat.

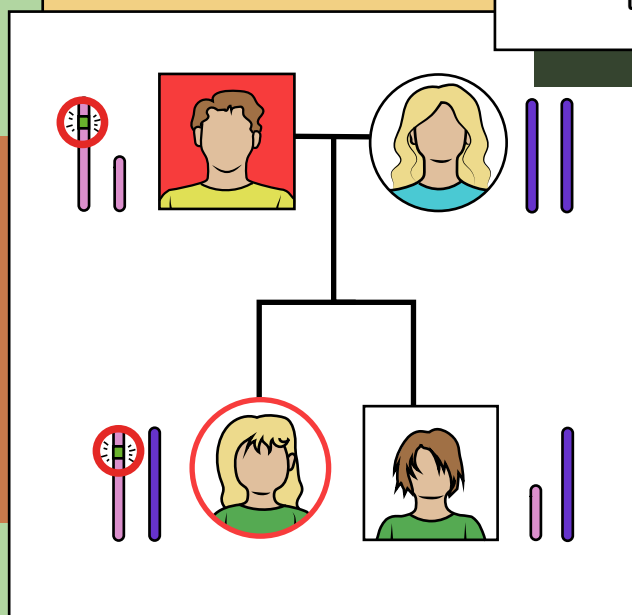


Recesiv legată de X



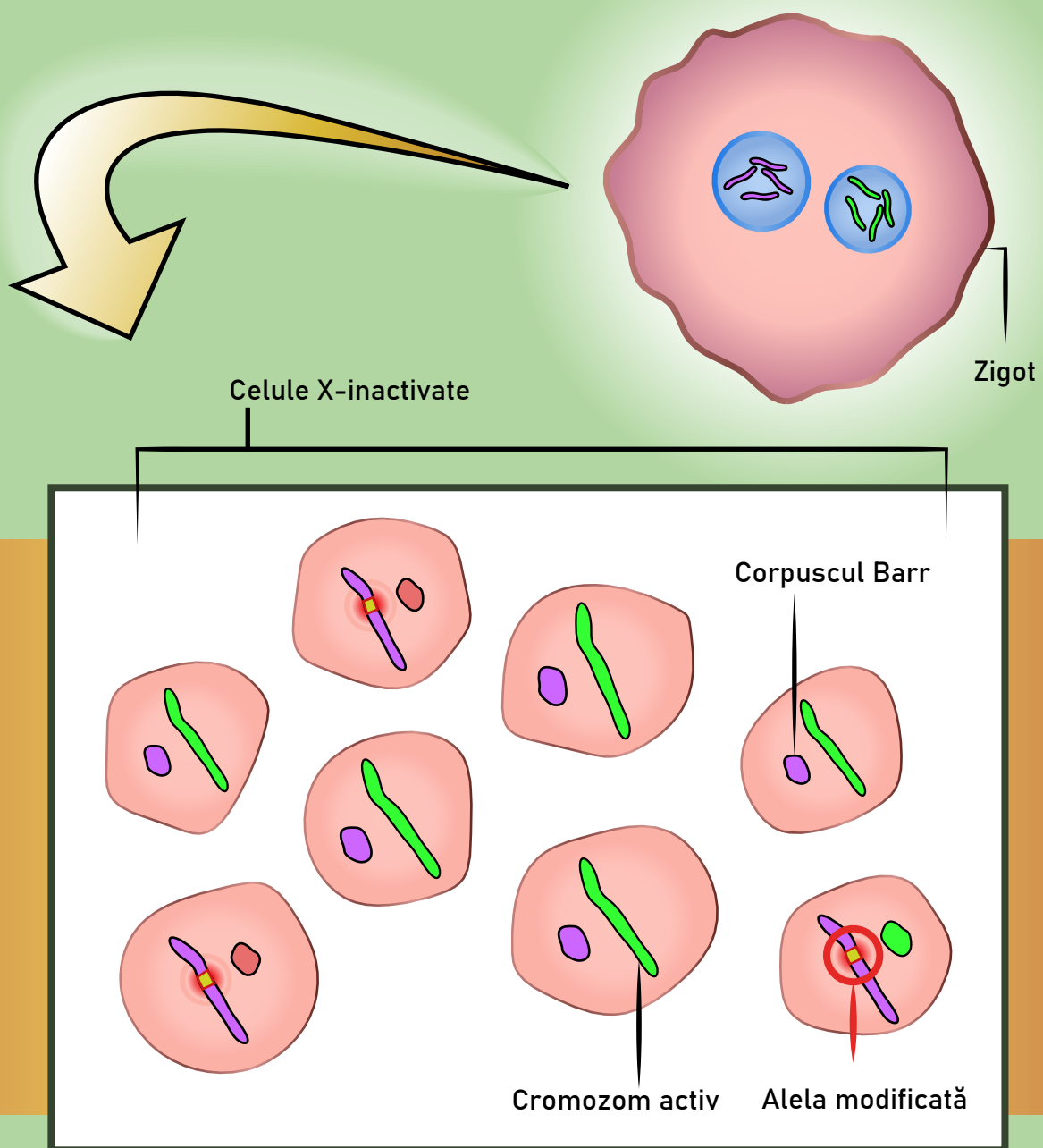
În moștenirea legată de X, o femeie purtătoare poate avea un fiu neafectat ($1/4$), o fiică neafectată ($1/4$), o fiică purtătoare ($1/4$) sau un fiu afectat ($1/4$).

Dacă un bărbat afectat are copii, toate fiicele sale vor fi purtătoare și toți fiii săi vor fi neafecțați.



- Bărbat
- Femeie
- Purtători
- Afectat

În cazul în care o femeie are o variantă patogenică pe un cromozom X, inactivarea X înseamnă că, în medie, jumătate din celulele sale vor avea alela funcțională/normală activă, iar jumătate vor avea doar alela patogenică activă. Aceasta explică de ce femeile care poartă o variantă patogenică legată de X pot prezenta caracteristici ușoare sau subclinice ale unei tulburări legate de X.

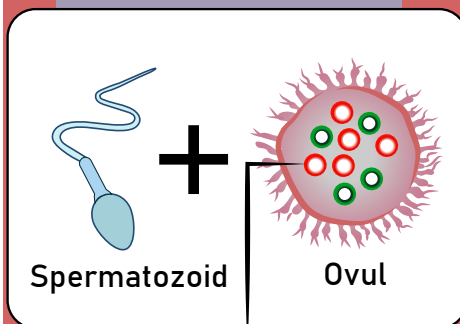


MOSTENIRE MITOCONDRIALA NON-MENDELIANA

Mitocondriile din celulă au propriul genom format dintr-o singură buclă de 16 569 perechi de baze. Cu mai multe mitocondrii în fiecare celulă, există mai multe copii ale genomului mitocondrial în fiecare celulă. În multe cazuri, o mutație este prezentă doar într-o proporție de mitocondrii, iar proporția variază de la o celulă la altă în cadrul unui individ. ADN-ul mitocondrial este transmis numai pe cale maternă - în ovul

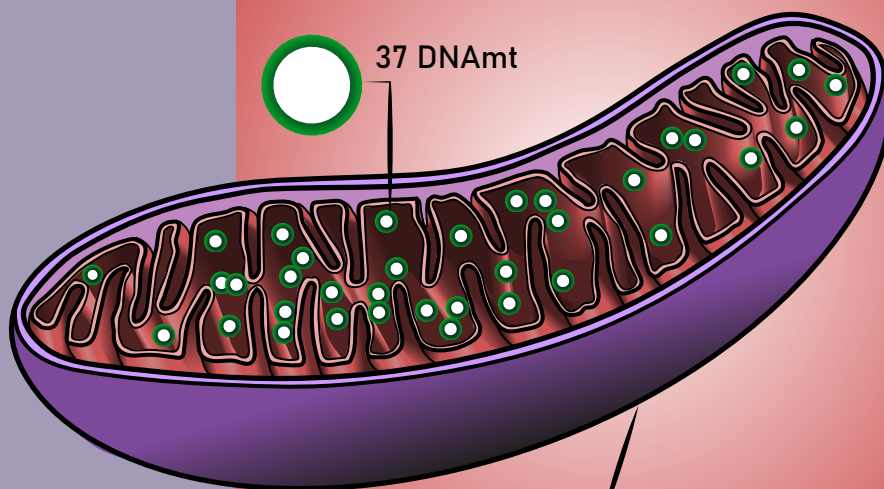
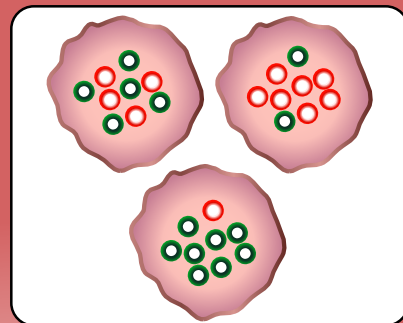
Heteroplasmie

Fertilizare

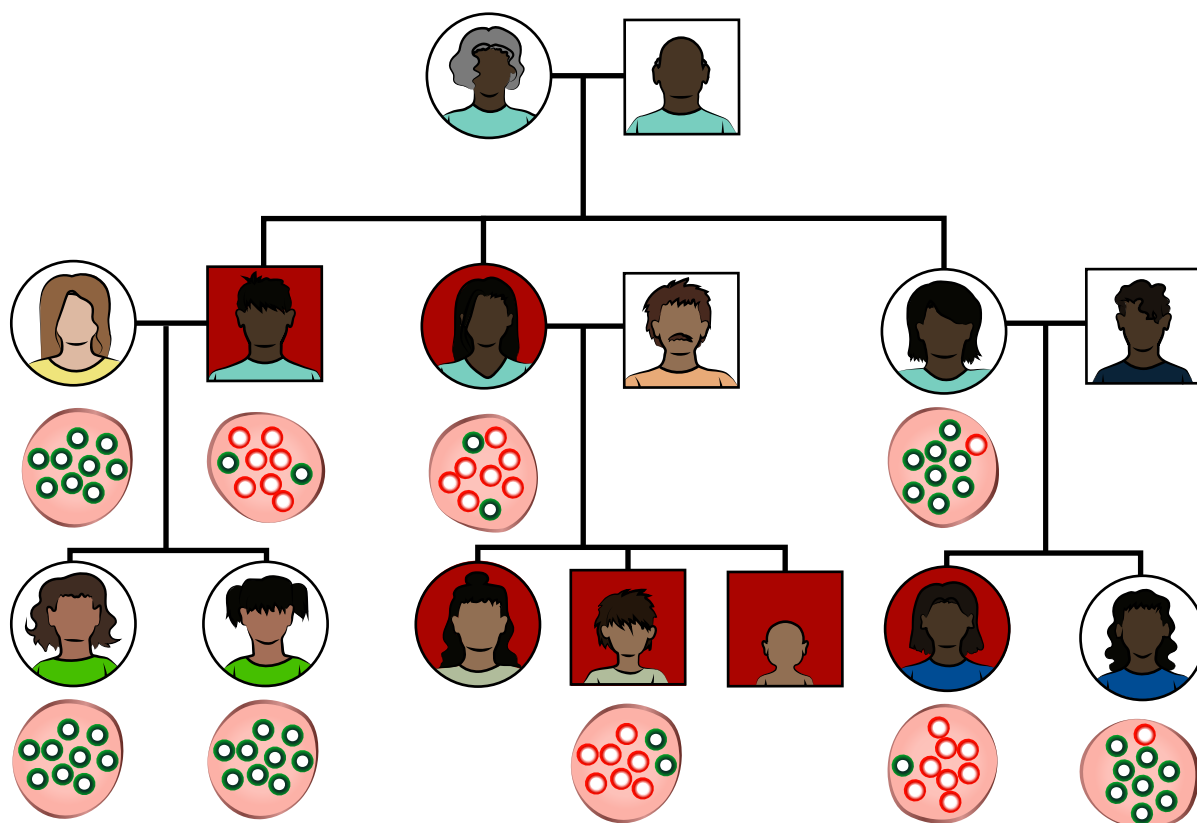


Inele mtDNA
mutante

Zigoți posibili



Mitocondrie



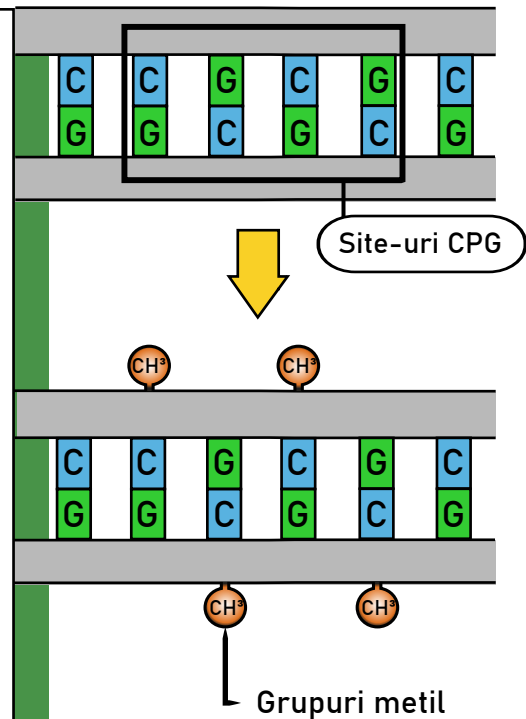
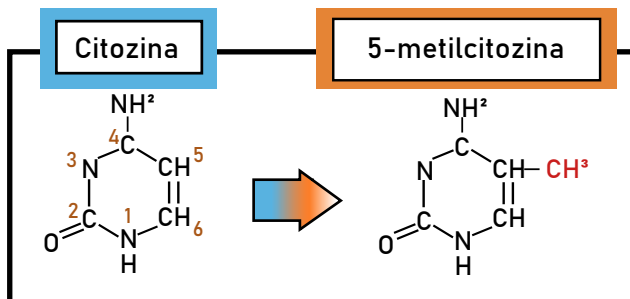
Deoarece ADN-ul mitocondrial este transmis numai matern, în ovul, ereditatea mitocondrială prezintă un model în care, de obicei, bărbații și femeile sunt afectați în egală măsură, dar numai o mamă afectată transmite boala copiilor săi.

METILAREA ADN

Metilare de novo

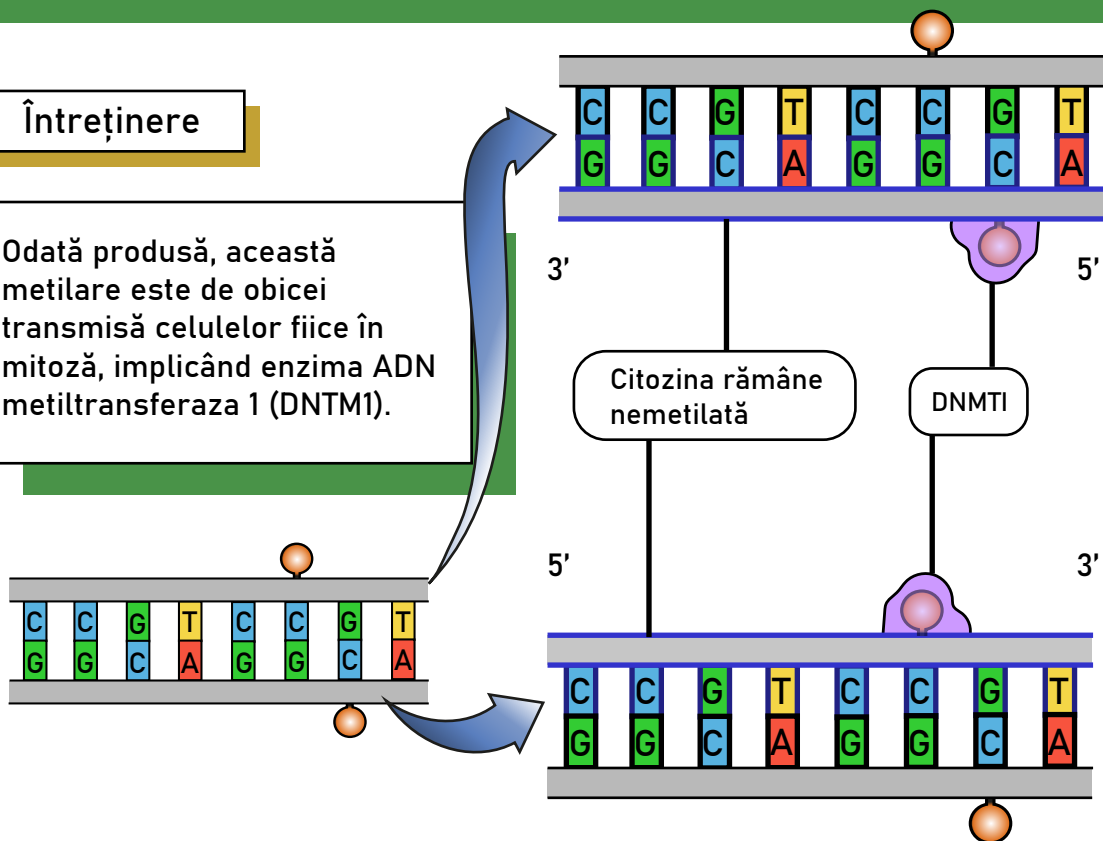
Un mecanism-cheie de control al expresiei genelor este metilarea ADN-ului. Această este o modificare epigenetică a ADN-ului, una care nu schimbă secvența de baze.

În cazul în care o citozina este adiacentă guaninei pe o catenă de ADN, aceasta este în mod obisnuit metilată, devenind 5-metilcitozina.



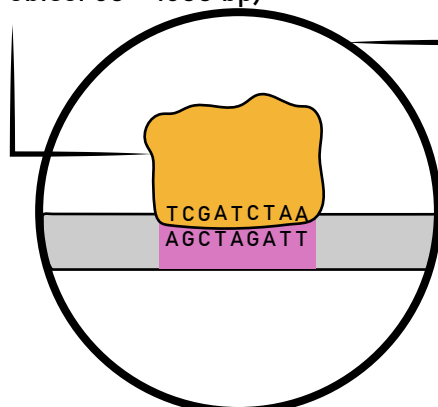
Întreținere

Odată produsă, această metilare este de obicei transmisă celulelor fiice în mitoză, implicând enzima ADN metiltransferaza 1 (DNMT1).

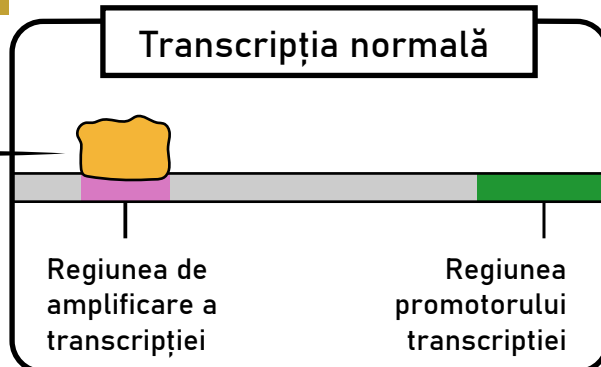


Reglarea expresiei genice

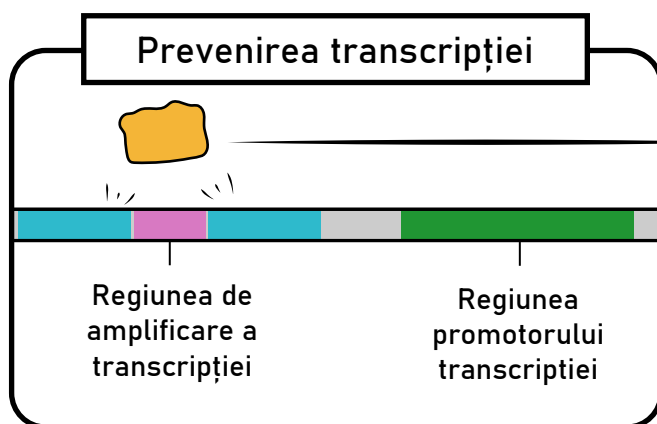
Proteină activatoare atașată la o regiune amplificatoare (de obicei 50 - 1500 bp)



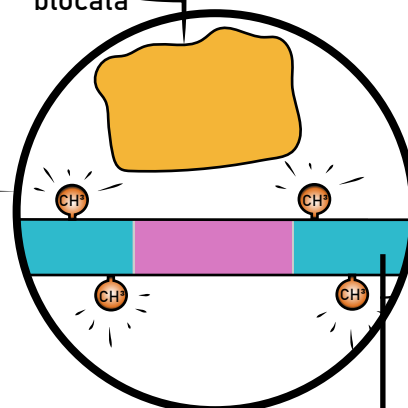
Transcripția normală



Prevenirea transcripției

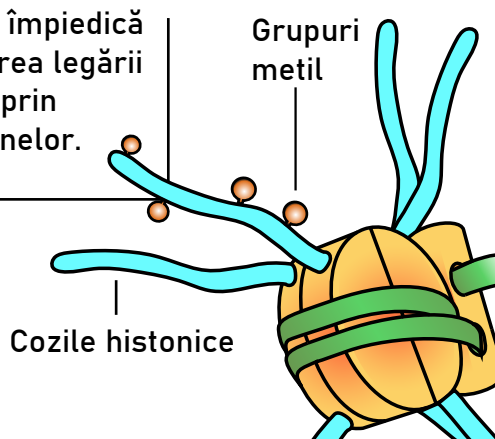


Proteină activatoare blocată

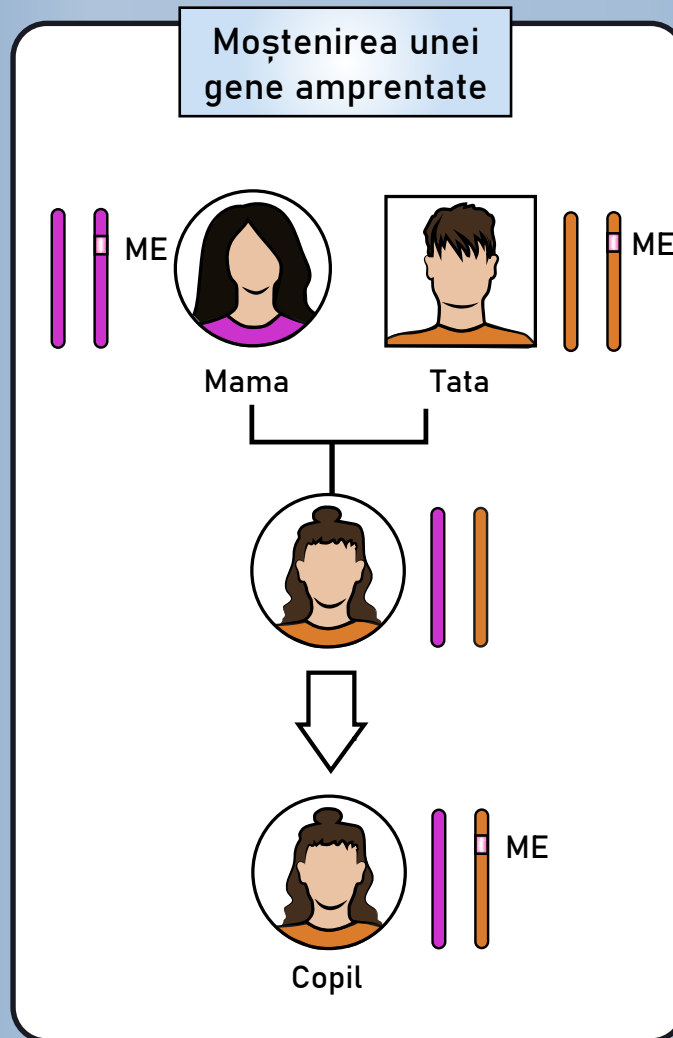


Insule CPG metilate (300-3000 bp)

Metilarea promotorului unei gene împiedică transcrierea genei prin împiedicarea legării factorilor de transcripție și prin deacetilarea indirectă a histonelor.



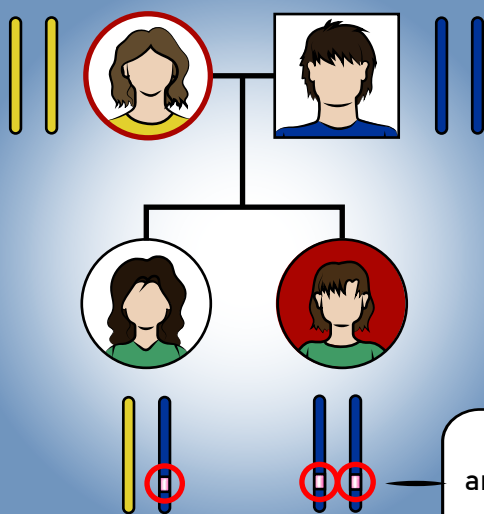
AMPRENTARE GENETICĂ



Unele gene sunt active numai în alela moștenită de la un părinte. Această se numește "amprentă". O genă amprentată patern este o genă care este exprimată numai în alela moștenită de la mama. O genă amprentată matern este cea care este exprimată numai în alela moștenită patern. Genele amprentate se găsesc în anumite regiuni cromozomiale, de exemplu pe cromozomul 15q.

Ereditatea în sindromul Angelman

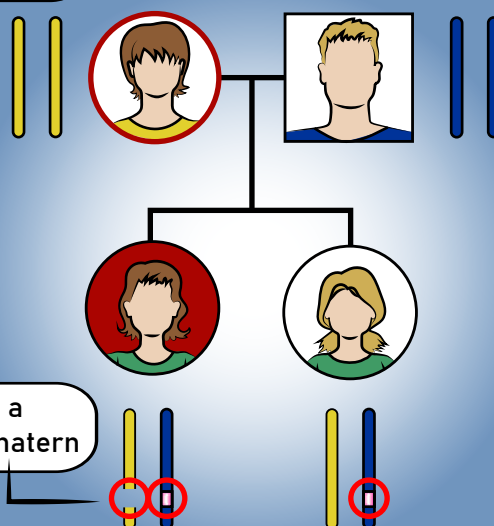
 — Zonă amprentată



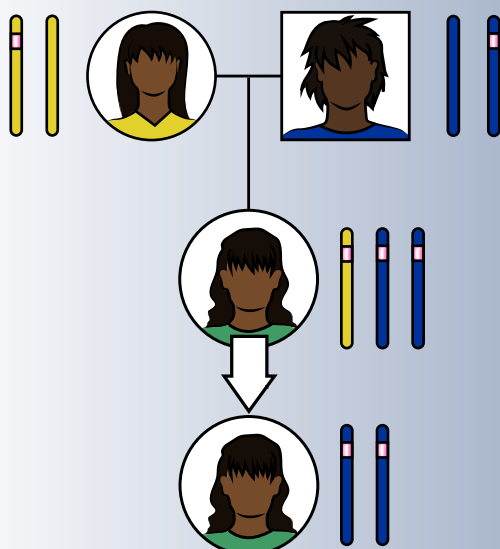
Genă UBE3A de pe cromozomul 15 este moștenită patern și este exprimată numai de alela maternă. Un copil la care UBE3A nu funcționează este afectat de o afecțiune numită sindrom Angelman.

Transmiterea ambilor cromozomi 15 de la tată

Alți copii sunt afectați de sindromul Angelman deoarece au o mutație, cum ar fi o deleție a copiei materne a genei de pe cromozomul 15.



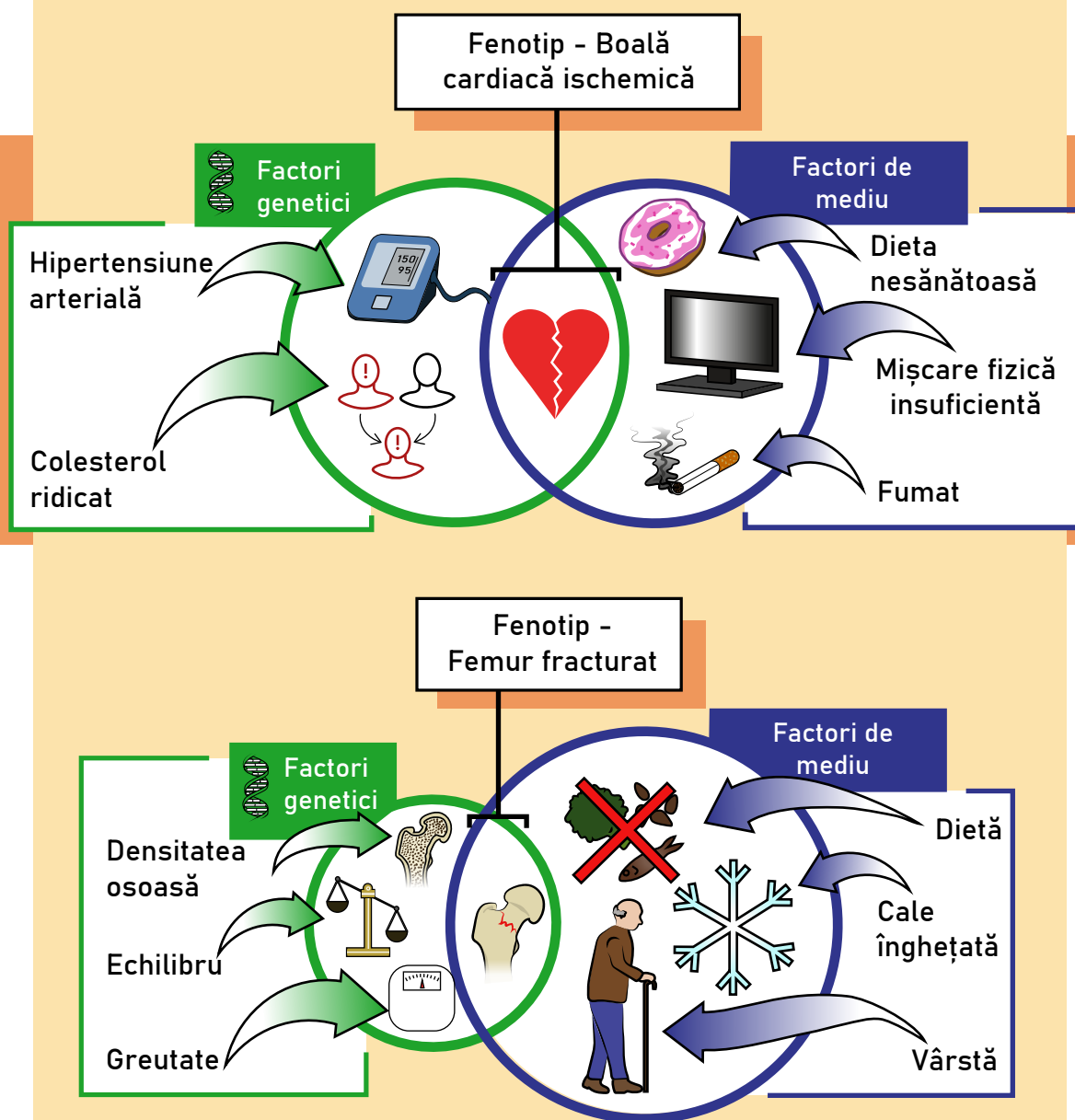
Deleție nouă a cromozomul 15 matern



Disomia uniparentală paternă

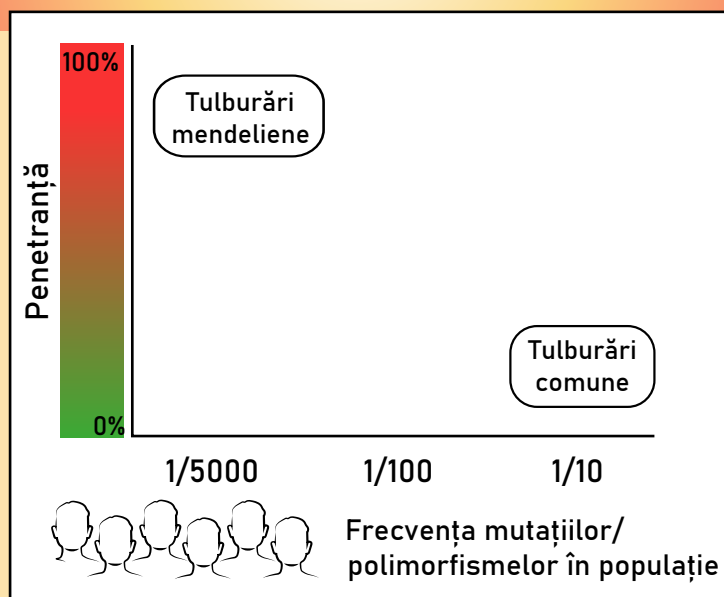
Un copil poate fi afectat deoarece moștenește ambele copii ale cromozomului 15 de la tatăl său, așa numită "disomie uniparentală".

EREDITATEA MULTIFACTORIALĂ



Aproape toate bolile comune au un amestec de cauze de mediu și genetice. În unele afecțiuni, factorii de mediu sunt mai importanți, în altele există o componentă genetică puternică.

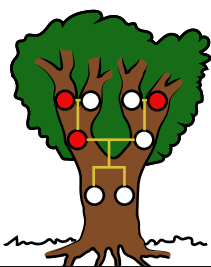
BOALA COMUNĂ ————— ————— VARIANTĂ COMUNĂ



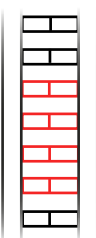
Variantele genetice cauzatoare de boli care sunt moștenite în mod mendelian au o penetranță ridicată, dar sunt rare în populație. Variantele genetice care sunt responsabile de predispoziția la boli comune ("multifactoriale") sunt mai frecvente în populație, dar au o penetranță scăzută (sau mărimea efectului).

În prezent, testele genetice sunt utilizate pe scară largă pentru tulburările mendeliene, deoarece prezic dezvoltarea bolii. În cazul bolilor comune, testele genetice sunt mai puțin utile, iar riscul este estimat pe baza unor caracteristici precum istoricul familial și expunerea la mediu.

Tulburări mendeliene = Testarea genetică

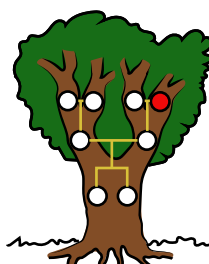


Istoric familie îngrijorată



Vârstă mai tanară,
mai multe cazuri,
prezentare neobisnuită

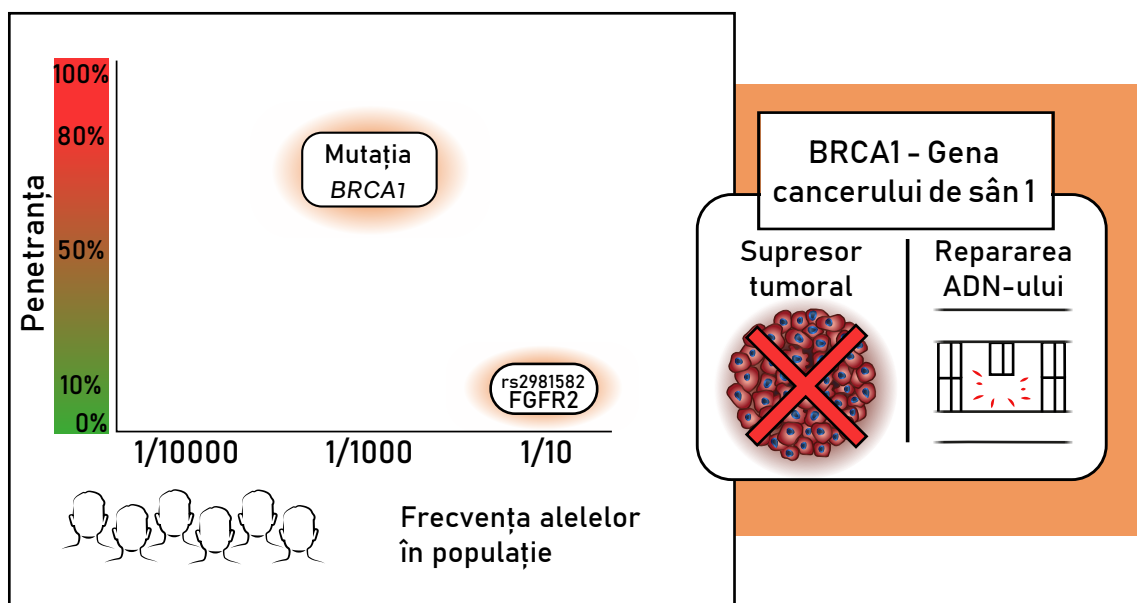
Tulburări comune = Estimarea riscului



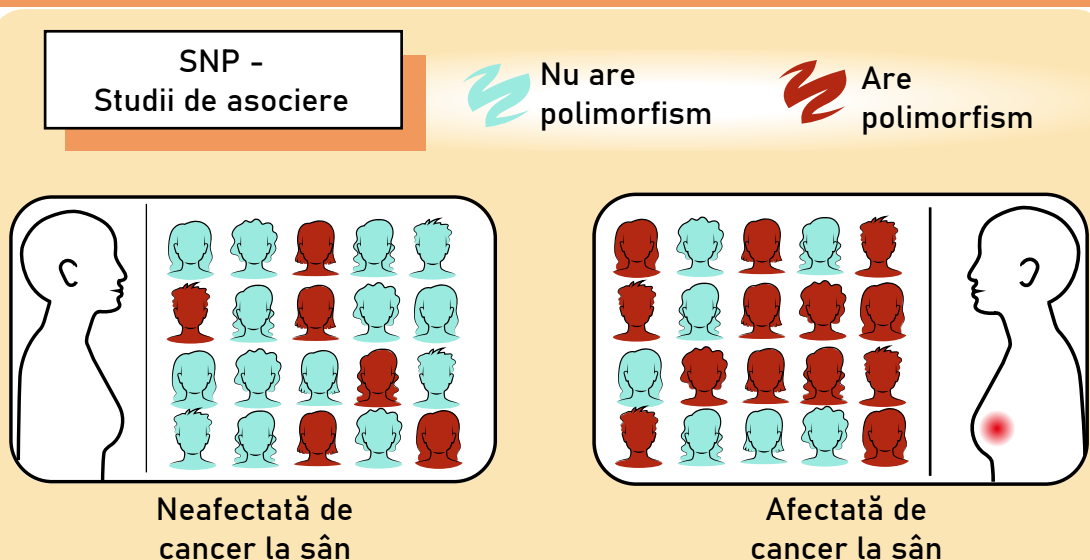
Verificați
istoricul familiei



Altele (de
exemplu, factori
de mediu)

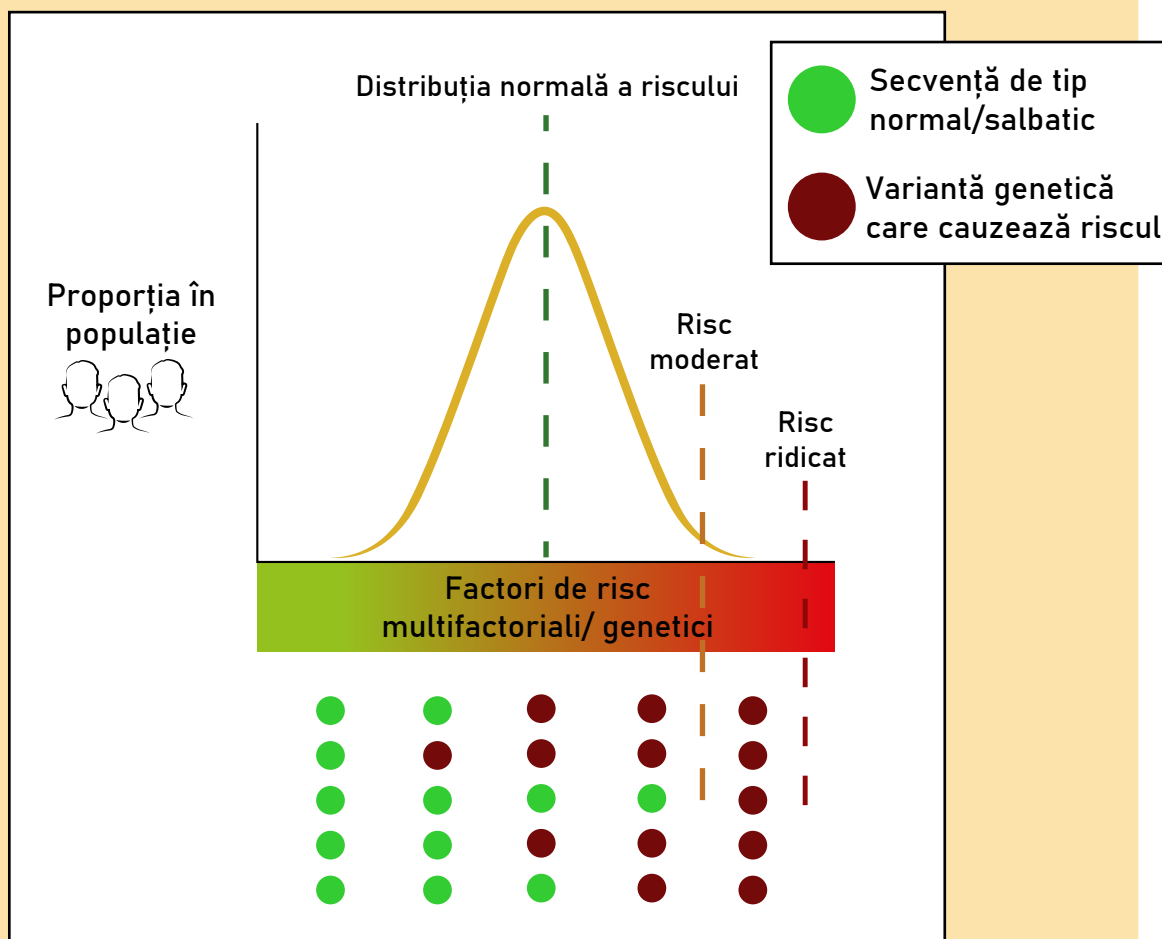


Unele afecțiuni pot avea o cauză genetică cu penetranță ridicată, dar mai frecvent au o cauză multifactorială. De exemplu, o proporție mică de femei afectate de cancer de sân prezintă o mutație BRCA1 care determină o creștere de 30 de ori a riscului. Pentru majoritatea femeilor, există mai mulți factori genetici și de mediu cu penetranță scăzută. Un exemplu în acest sens este un polimorfism cu penetranță scăzută în gena FGFR2, care crește riscul de cancer mamar cu un factor de aproximativ 1,2 ori riscul populației.



Polimorfismele cu penetranță scăzută sunt identificate prin compararea populațiilor de indivizi afectați și neafecți. Dacă un polimorfism este mai frecvent la persoanele afectate, atunci acesta este asociat cu boala respectivă. Majoritatea studiilor analizează polimorfismele din întregul genom și, prin urmare, sunt descrise ca studii de asociere la nivel de genom (GWAS).

BOALA COMUNĂ - RISC MULTIFACTORIAL

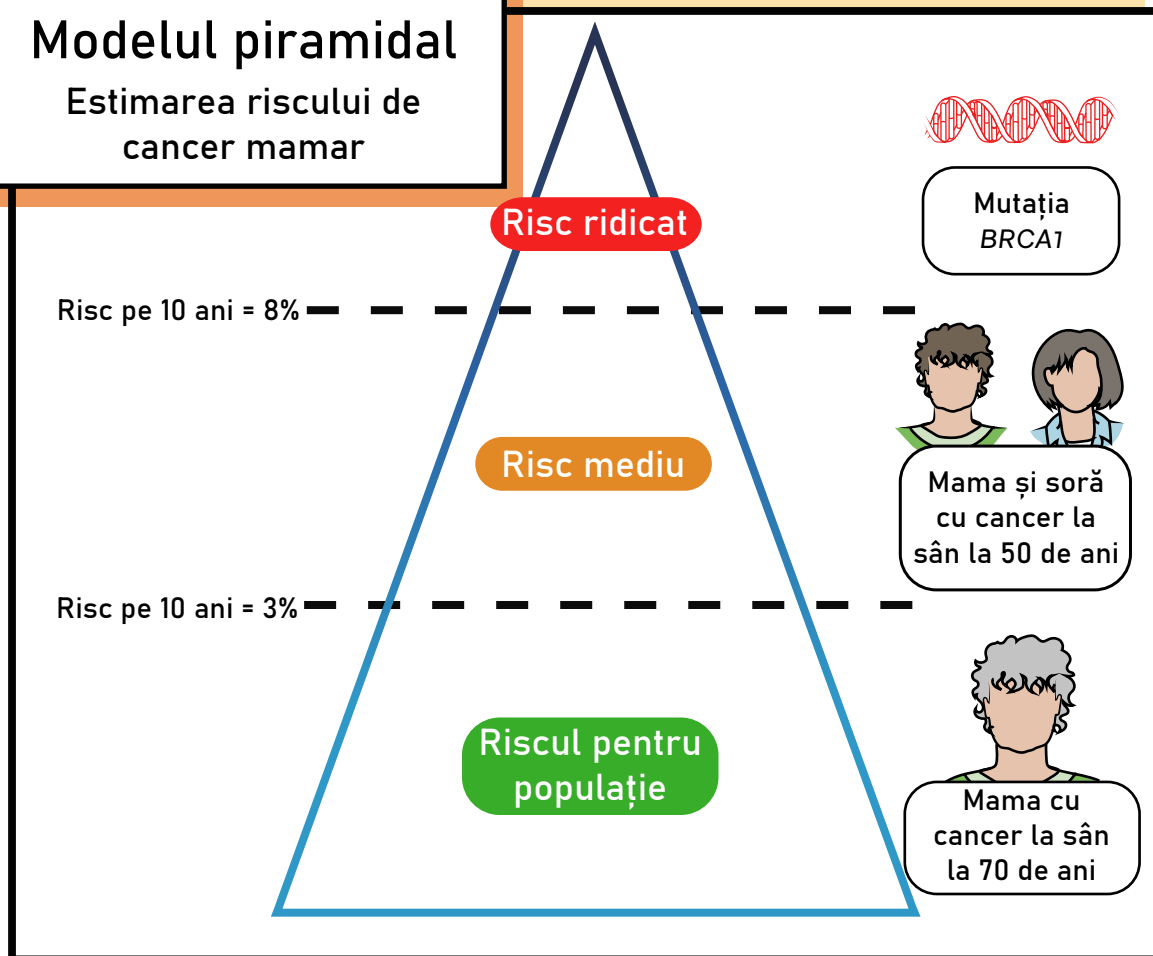


De obicei, se presupune că riscul pentru o boală comună urmează o distribuție normală. Riscul care se aplică unui individ este o funcție a numărului de factori de risc pe care acesta îi are. Aceștia pot fi factori genetici sau de mediu.

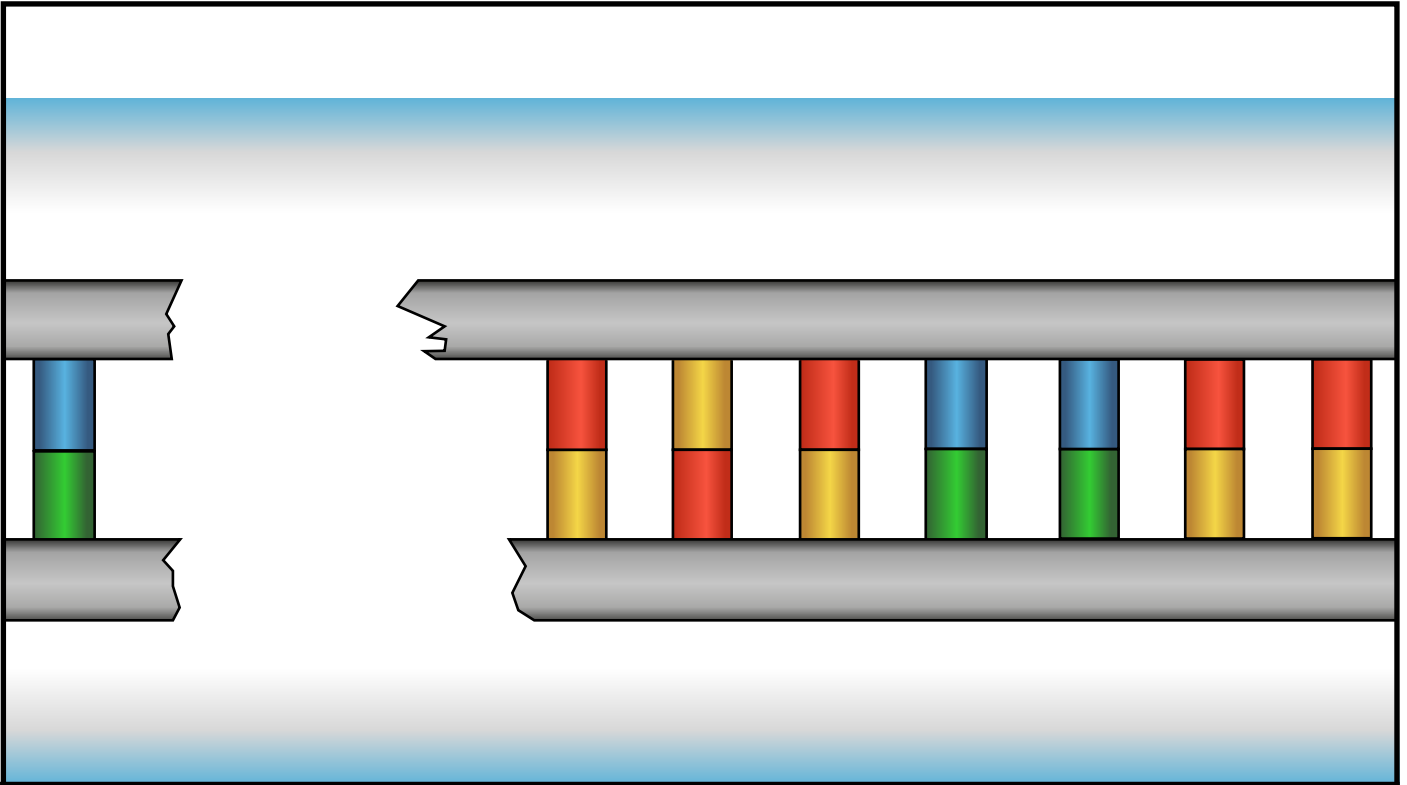
Pentru unele afecțiuni, cum ar fi cancerul de sân, exista ghiduri naționale sau internaționale privind nivelul de risc care ar justifica o intervenție suplimentară - de exemplu, screening sporit sau tratament care reduce riscul.

Modelul piramidal

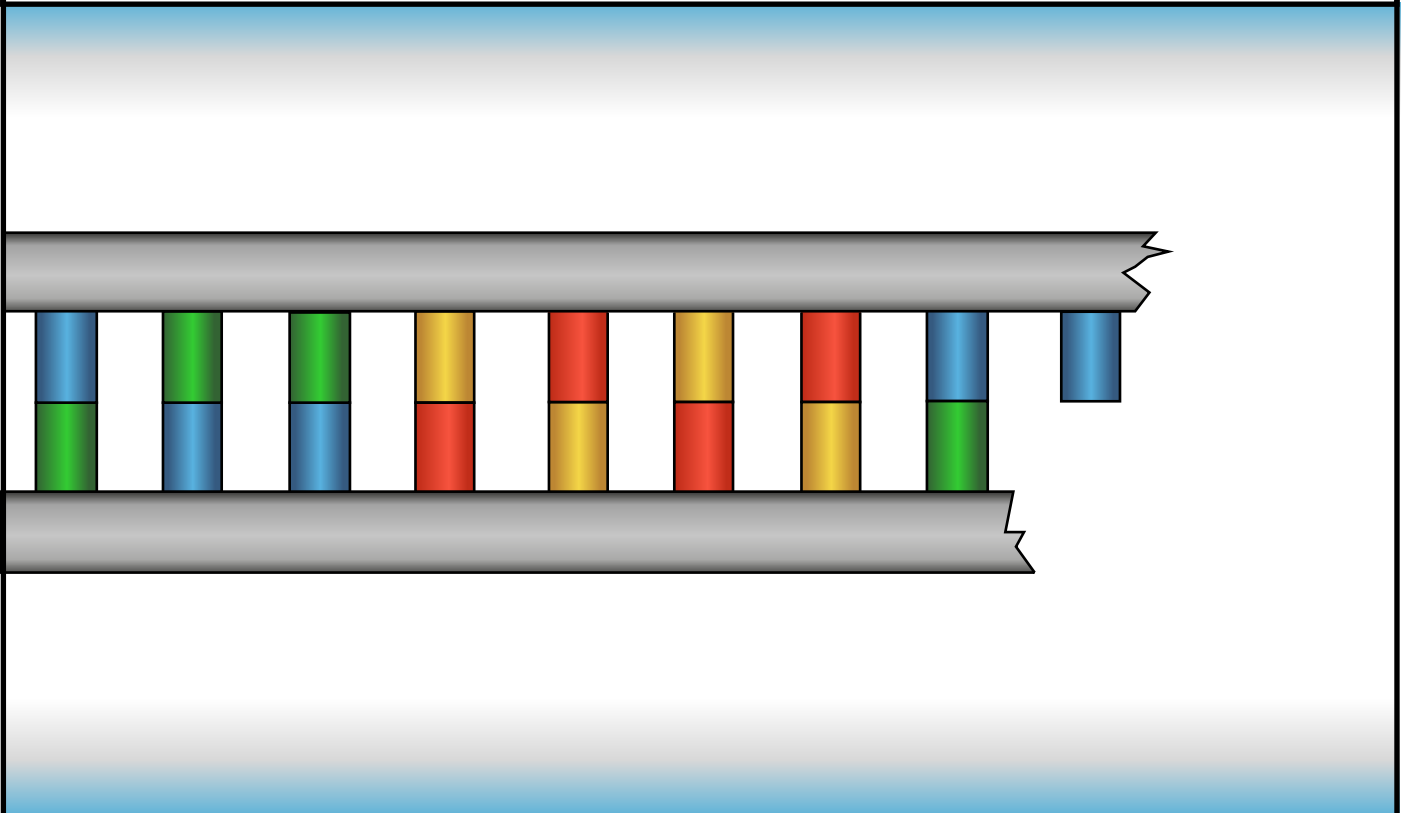
Estimarea riscului de cancer mamar



În practica clinică, pentru anumite afecțiuni genetice, se obișnuiește să se definească praguri de risc. Acestea se pot baza pe istoricul familial și pe alți factori, cum ar fi testele genetice. De exemplu, în ceea ce privește riscul de cancer mamar, existența unei singure rude afectate la o vârstă înaintată nu justifică o modificare a tratamentului. A avea două rude afectate de cancer mamar ar crește riscul la un nivel de "risc moderat", justificând întărirea screeningului pentru cancer. Existența unei mutații BRCA1 ar crește riscul la un nivel la care ar fi justificată depistarea precoce a cancerului prin RMN și mastectomia profilactică.



C A N C E R

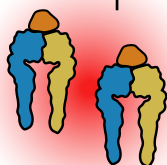


SEMNELE DISTINCTIVE ALE CANCERULUI

1. Semnalizare proliferativă susținută

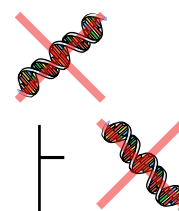
Tumorile își produc proprii factori de creștere și/sau supraexprimă receptorii (a se vedea Cancerul HER2 la pagina 41).

Supraexprimarea receptorilor



2. Evitarea supresorilor de creștere

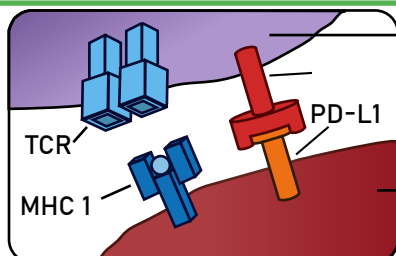
Genele supresoare de tumori care sunt implicate în funcționarea normală a ciclului celular sunt inactivate sau împiedicate de proteinele mutante.



Gene suprimate, cum ar fi RB1 (retinoblastom) și p53.

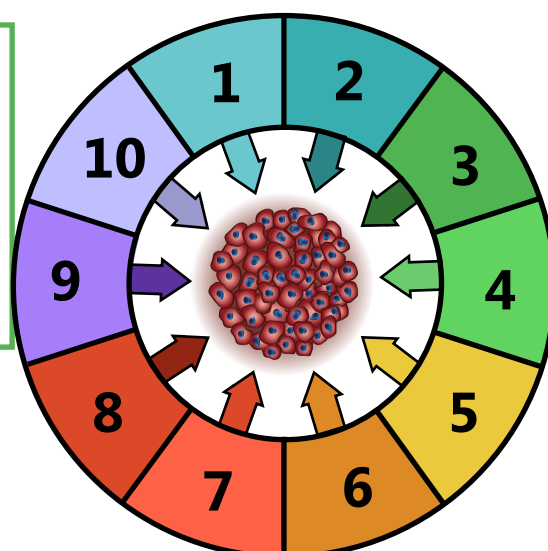
3. Evitarea distrugerii imunitare

Celulele tumorale se sustrag detectării și eliminării în timpul dezvoltării lor. Unele celule tumorale se adaptează la sistemul imunitar și la activitatea sa antitumorală, de exemplu, prin exprimarea unor proteine precum PD-L1 pentru a suprima legarea receptorului celulelor T la (Complexul major de histocompatibilitate 1).



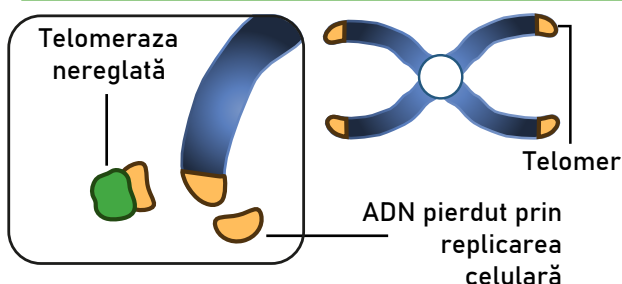
Celulă T citotoxică

Celulă tumorală



4. Blocarea mortalității replicative

Telomerii (excesul de ADN) se scurtează după mai multe replicări și, în cele din urmă, celulele intră în senescență. Tumorile utilizează enzima telomereză pentru a continua adăugarea de ADN, astfel încât celula să se poată diviza în continuare.



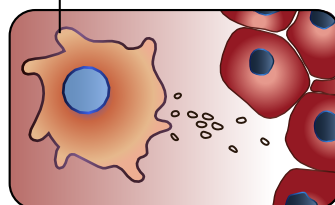
Telomerasa nereglată

Telomer

ADN pierdut prin replicarea celulară

5. Inflamația care favorizează apariția tumorilor

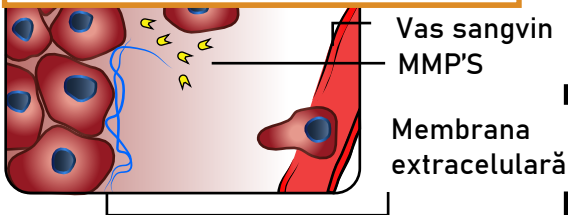
Macrofage producătoare de citokine pro-inflamatorii



Supraproducția de prostaglandină E2 (PGE2), de exemplu, declanșează un răspuns inflamator în tumoră. Citokinele eliberate de macrofagele asociate tumorii pot stimula dezvoltarea acestora.

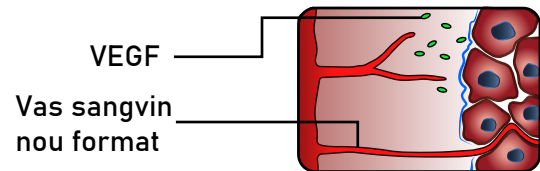
6. Activarea invaziei și a metastazelor

Aceasta este condusă de celulele tumorale secundare. Metaloproteinazele matriceale (MMP) sunt utilizate de celulele tumorale pentru a străpunge membrana extracelulară, permițând celulelor să se desprindă și să intre într-un vas de sânge și în alte medii.

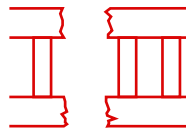


7. Inducerea angiogenezei

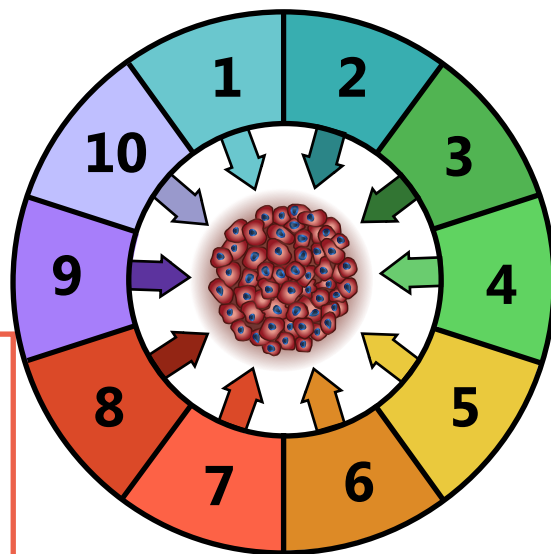
Celulele tumorale încurajează formarea de noi vase de sânge. Acestea pot face acest lucru prin eliberarea factorului de creștere endotelial vascular (VEGF) sau a factorului de creștere a fibroblastelor de bază (bFGF).



8. Instabilitatea genomică



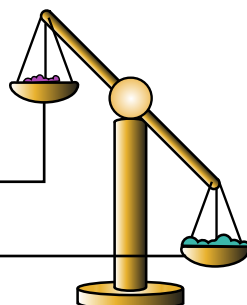
Repararea ADN previne mutațiile somatice în celulele în diviziune. Majoritatea celulelor canceroase pierd aspecte ale reparării ADN și dobândesc instabilitate genomică. Acest lucru permite celulelor să dobândească "mutații promotoare" în gene, accelerând evoluția spre malignitate.



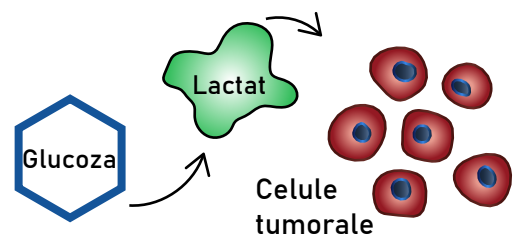
Apoptoza este controlată de un echilibru de proteine care reglează atât moartea, cât și proliferarea celulară. Atunci când echilibrul este perturbat de celulele tumorale cu supraproducție de proteine antiapoptotice, cum ar fi Bcl-2 (limfom cu celule B 2), distrugerea celulară este inhibată.

9. Rezistența la moartea celulară

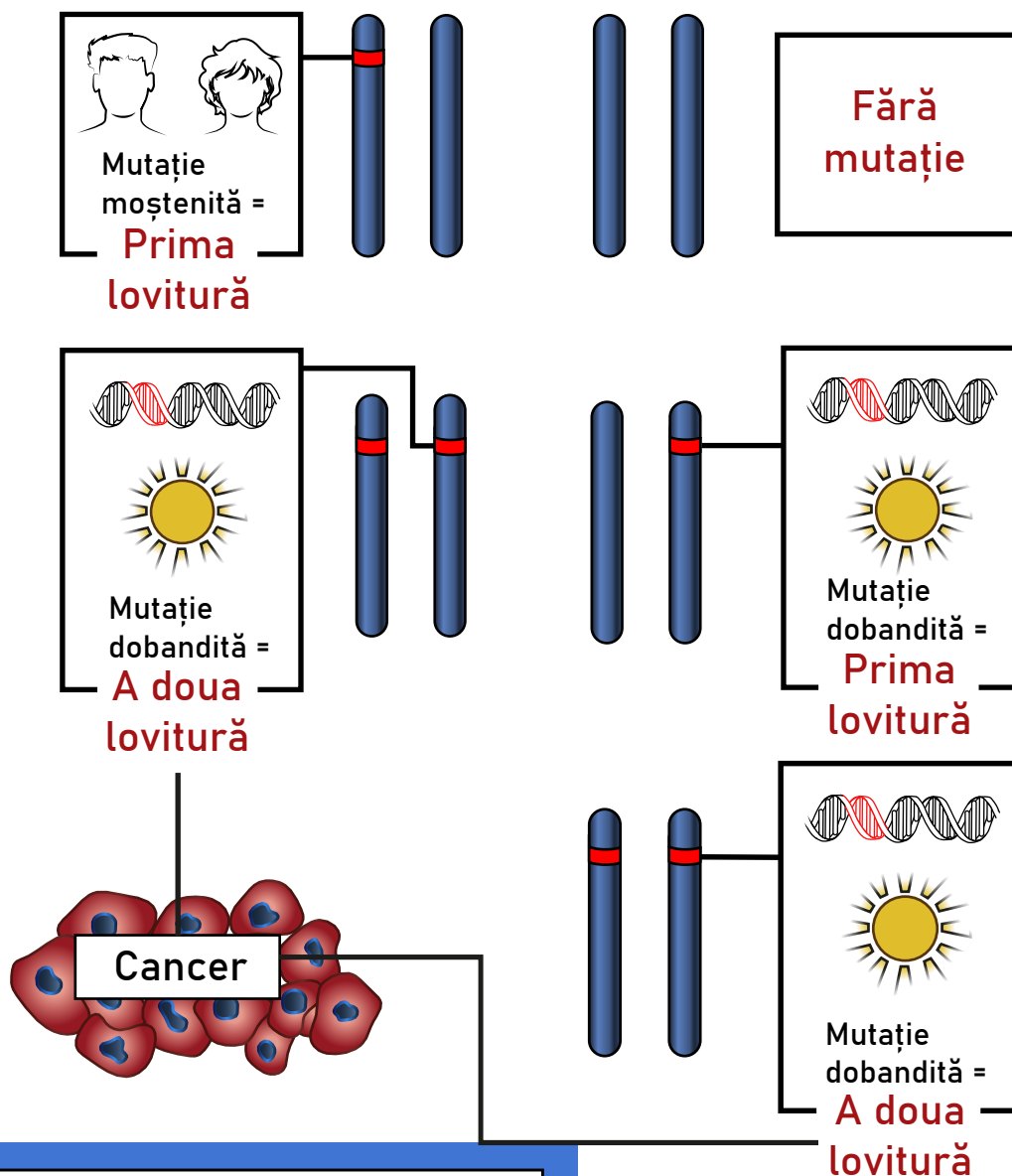
Proteine pro-apoptotice
Proteine antiapoptotice



10. Dereglarea energeticii celulare



Glicoliza aerobă transformă glucoza în lactat în procente mult mai mari în celulele tumorale, ceea ce încurajează producția de precursori de aminoacizi (acid nucleic), stimulând astfel formarea de celule fiice.



IPOTEZA CELOR DOUĂ LOVITURI (KNUDSON)

Ipoteza celor două lovituri este esențială pentru înțelegerea modului în care mutațiile ereditare cauzează cancerul. O celulă poate necesita să piardă două copii ale unei gene pentru a progresa spre malignitate. În multe cazuri, aceste două mutații apar ca două mutații somatice separate. Cu toate acestea, o mutație poate fi moștenită, caz în care este necesară doar o singură mutație somatică într-o celulă. La o persoană care a moștenit o mutație, evoluția către cancer este mult mai probabilă la o vârstă mai fragedă. Acest mecanism s-a dovedit a fi important în multe cazuri, cum ar fi retinoblastomul familial și cancerul de sân moștenit.

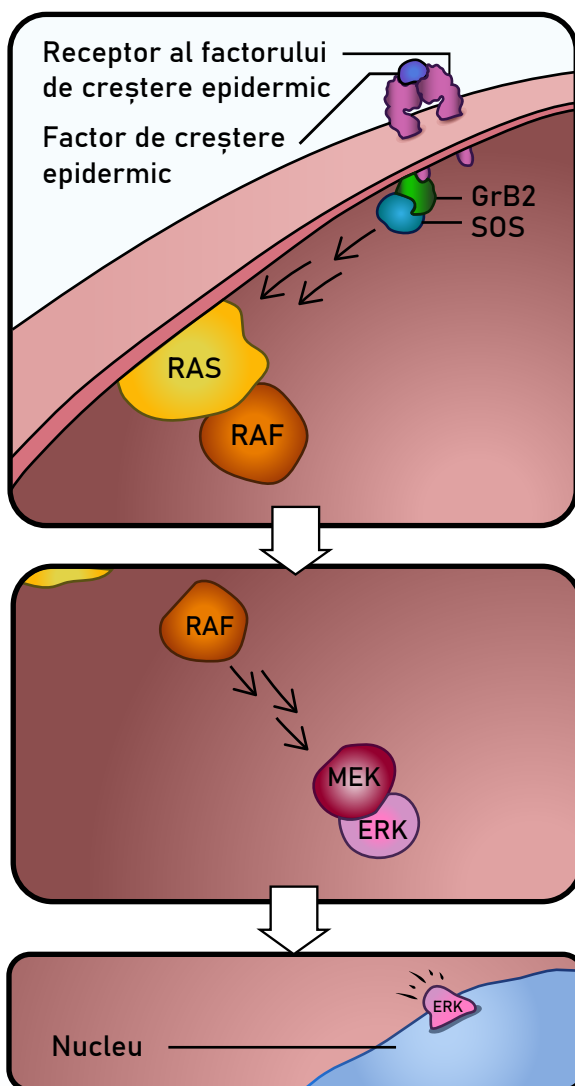
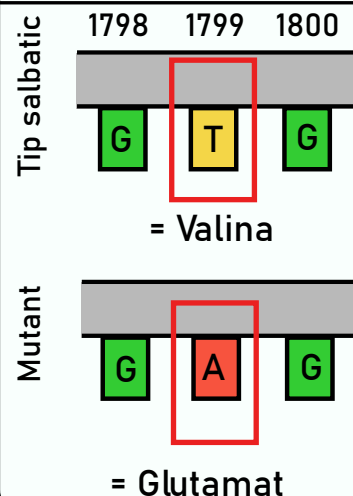
MUTAȚIE

BRAF

CANCERUL
PE CALEA
MAPK

Cancer cells acquire multiple mutations as one of the mechanisms of achieving the different hallmarks. An example is the V600E mutation in *BRAF*. This mutation changes a Valine to a Glutamic acid at position 600 in the protein, activating the *BRAF* protein. Activated *BRAF* drives the MAP kinase signalling pathway, increasing cell proliferation

Secvența exonului 15 *BRAF*
V600E

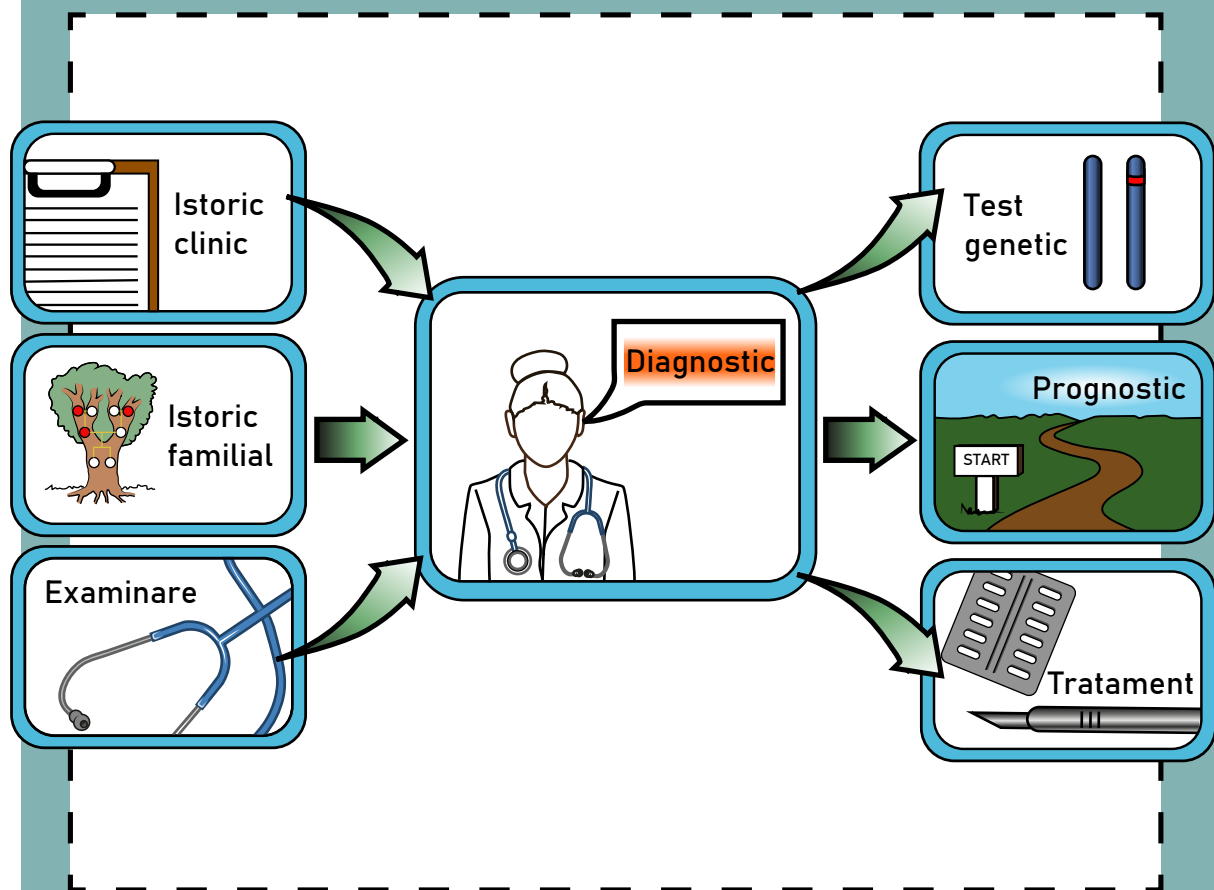


Odată ce factorul de creștere epidermică se atașează la receptorii celulari, proteinele sunt recrutate la coada citoplasmatică a receptorului. Proteinele interacționează între ele și, în cele din urmă, ERK intră în nucleu pentru a activa transcripția.

Hiperactivitatea *BRAF* = creștere anormală a celulelor

Medicamentul Vemurafenib inhibă *BRAF* activat și poate fi un tratament eficient pentru cancerul care a mutat V600E.

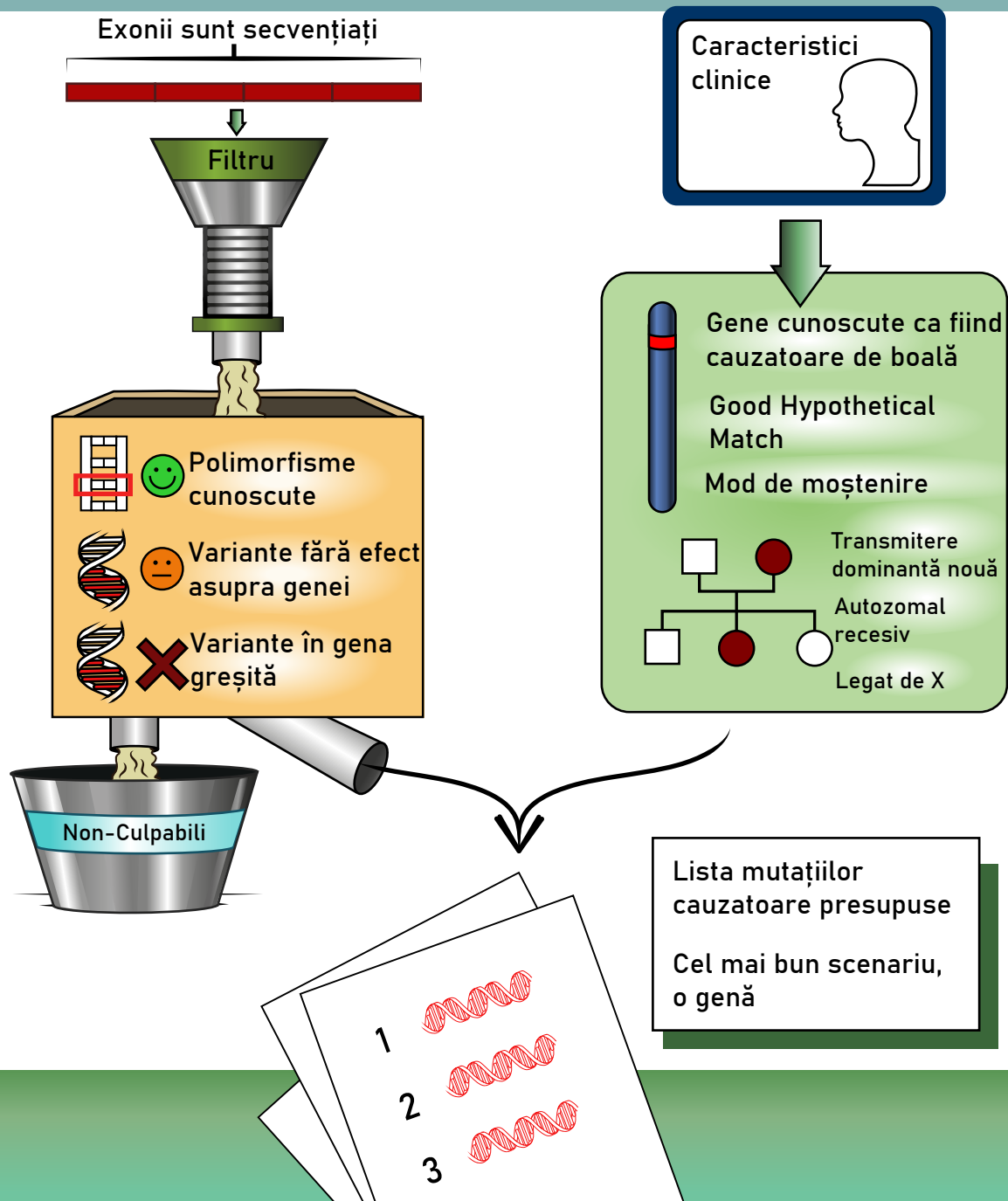
PRACTICA CLINICĂ CLASICĂ

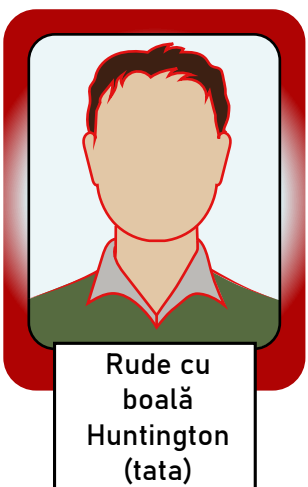
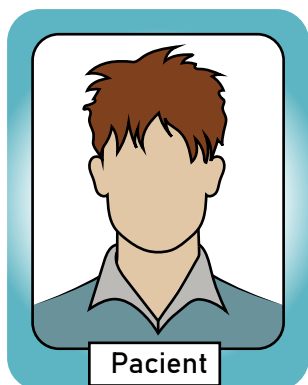


În cadrul unei consultații de genetică clinică, prima sarcină este stabilirea unui diagnostic pentru pacient. Ca în orice ramură a medicinei, acest lucru se face folosind o combinație de antecedente clinice, antecedente familiale și orice constatări la examinarea clinică. Suspiciunea de diagnostic este esențială în orientarea testelor genetice, în determinarea tratamentului și în furnizarea de informații pacientului.

INTEGRAREA SECVENȚIEREA DE NOUĂ GENERAȚIE

Odată cu capacitatea de a secvenția întregul genom, practica genetică clinică s-a schimbat. Secvențierea genelor și evaluarea clinică sunt integrate pentru a descoperi cauza genetică a unei boli rare. Prezentarea clinică identifică genele relevante care urmează să fie incluse în analiză. Odată creată o lista de posibile variante patologice, informațiile clinice și de laborator, precum și rezultatele analizei bioinformatică sunt utilizate pentru a încerca să se găsească o singură variantă patogenă cauzală.

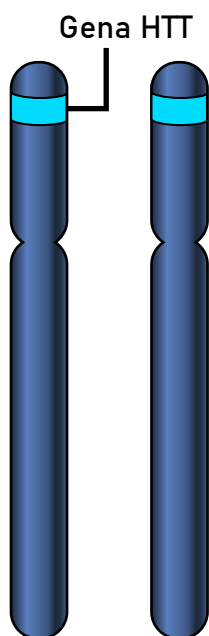




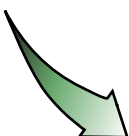
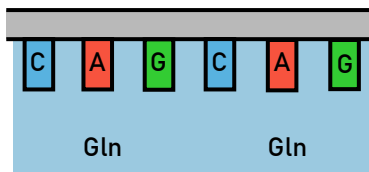
Testarea pre-simptomatică

În genetica clinică, este posibil să se testeze o persoană înainte ca aceasta să aibă o boală. Pacientul prezentat este sănătos, dar prezintă un risc de 50% de a avea o mutație a bolii Huntington și, prin urmare, de a dezvolta o boală neurodegenerativă fatală. Această testare presimptomatică (sau predictivă) ridică o serie de probleme. Pacientul va trebui să ia în considerare diferite aspecte înainte de a decide dacă să efectueze sau nu testul.

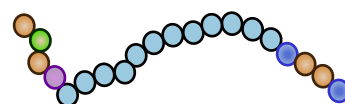
Cromozomul 4



Codon repetitiv
pentru glutamină

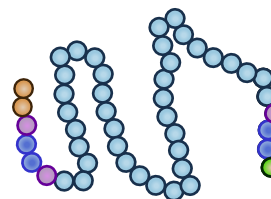


Genă HTT normală



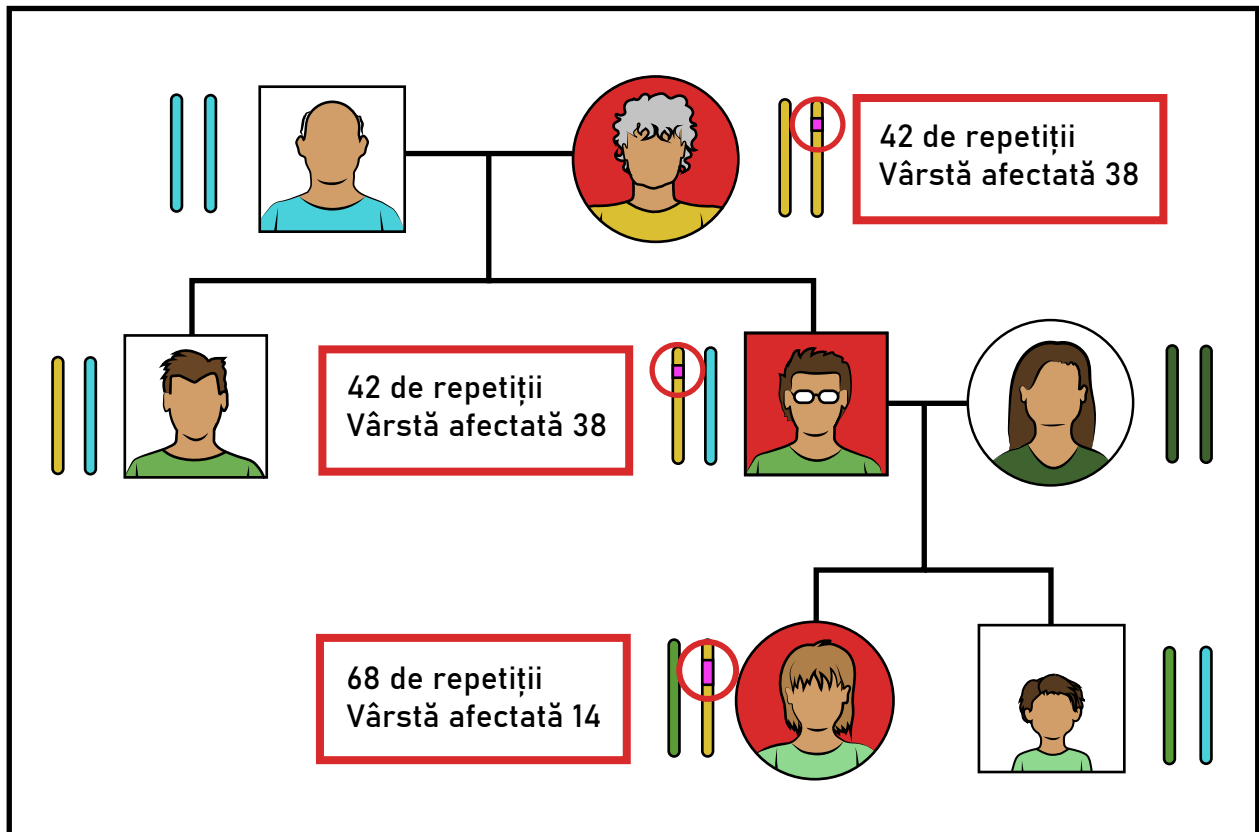
Lanț de glutamină
(mai puțin de 35
de repetiții)

Lanț de glutamină
(mai mult de 36
de repetiții)



**Boală
Huntington**

Moștenirea genetică a bolii Huntington



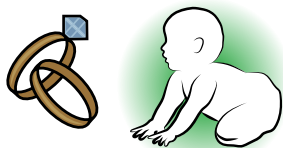
Boala Huntington (HD) prezintă un fenomen numit anticipație. Repetiția de trinucleotide în gena HTT se poate prelungi atunci când este transmisă în meioza masculină. Debutul bolii este, de obicei, în viața adultă. Rareori, un copil va moșteni o mutație de expansiune foarte mare în genă și va fi afectat în timpul copilăriei.



Certitudine

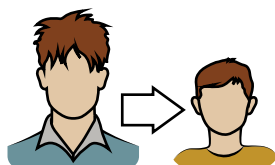
- Potențial de a obține o reasigurare

Planificarea pentru viitor



Posibile acțiuni medicale viitoare/ Stabilizare

- Simptomele pot fi ținute sub control cu medicamente, dar nu vindecate



Informarea copiilor cu privire la riscurile genetice

AVANTAJE PRE-SIMPTOMATICE



Pacient

DEZAVANTAJE PRE-SIMPTOMATICE



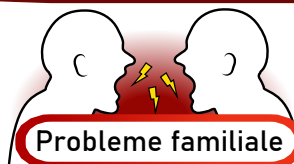
Impactul asupra sănătății mintale

- Depresie
- Vinovața supraviețuitorului
- Planuri de viitor



Probleme sociale și legate de muncă

- Dezvaluirea rezultatelor
- Discriminare
- Stres exacerbat



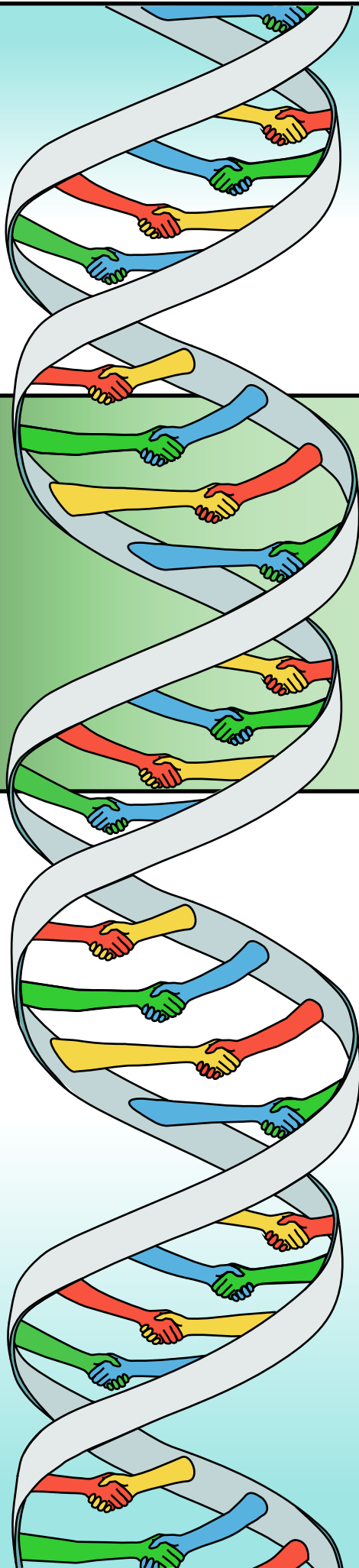
Probleme familiale

- Secrete familiale sensibile (de exemplu, adopție, non-paternitate)
- Implicații asupra altor membri ai familiei



Planificare financiară

- De exemplu, ipotecile



AM
TERMINAT!